



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

**EFFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
NÚCLEO BASAL MAGNOCELULAR SOBRE EL
CONDICIONAMIENTO DE EVITACIÓN ACTIVA DE
DOS SENTIDOS, EN RATAS**

ANA MONTERO PASTOR

2004

Ana Montero Pastor

TESIS DOCTORAL

**Efectos de la estimulación eléctrica del Núcleo Basal
Magnocelular sobre el condicionamiento de evitación
activa de dos sentidos, en ratas**

Tesis doctoral dirigida por: Dra. Margarita Martí Nicolovius

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut
Facultat de Psicologia
Institut de Neurociències
Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra (Barcelona), 2004

Este trabajo ha sido posible gracias a:

- Una beca FPI del Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya (2000FI 00460).
- Una ayuda de la Generalitat de Catalunya (2002SGR 00080).
- Una ayuda del Ministerio de Ciencia y Tecnología (PSO2002-03441).

Memory is not simply a record of experiences; it is the basis of our knowledge of the world, our skills, our hopes and dreams and our ability to interact with others and thus influence our destinies

James L. McGaugh

Han sido muchos los momentos especiales que he tenido la suerte de compartir con todas aquellas personas que han estado a mi lado durante los años de realización de esta tesis. Personas que me han ayudado en todo momento, que siempre han tenido palabras de apoyo y de cariño hacia mí, personas que sin lugar a dudas han demostrado ser verdaderos amigos. Por todos estos motivos y muchísimos más, el balance de todo este tiempo transcurrido no puede ser más que positivo tanto a nivel profesional como personal. A todos, mi más sincero “¡gracias!”, de todo corazón.

A Tina, por haber estado siempre a mi lado desde el inicio de esta tesis (e incluso antes), por su gran apoyo y por haber depositado en mí su confianza. Porque su optimismo, su energía y su gran capacidad para emprender nuevos proyectos ha hecho que se convierta en una persona de referencia en mi vida.

A Ignacio, por su apoyo, por su siempre interés y preocupación acerca no sólo de la marcha del trabajo sino también del bienestar personal, por haberme demostrado su confianza hacia mí y por esa valiosa ayuda prestada en la recta final de la tesis.

A Anna Vale, porque siempre se ha mostrado dispuesta a ayudarme en todo, todo, todo a pesar de lo ocupada que pudiera estar, y por ese optimismo y vitalidad contagiosos que desprende.

A Gemma, por sus consejos en el trabajo, por su empatía y porque sencillamente es una persona sincera en sus opiniones y honesta en su manera de actuar y eso siempre se agradece.

A Diego, por su infinita comprensión sobre todo en los momentos más duros de la tesis, por haber estado siempre a mi lado para todo y en todo momento y porque sin él muchas cosas de mi vida simplemente no hubiesen sido posibles.

A Meritxell, porque es una persona que siempre sabe poner las cosas en su lugar y darles la importancia que se merecen y por aquellas “conversaciones vía e-mail” que manteníamos París-Iowa y que en muchos momentos consiguieron subirme el ánimo.

A Pilar, por ser una persona increíblemente afectiva y cariñosa y por habérmelo demostrado con ese sincero mensajito que recibí mientras estuve fuera. ¡Ah! y por esa risa que tiene que se oye desde nuestro despacho (y más lejos...) y que siempre me contagia.

A Rosa, porque haber podido trabajar con ella codo a codo ha sido todo un lujo a nivel personal y profesional, a pesar de nuestras “desventuras” con las inmunos...

A David, por ese don natural que tiene para animar a la gente, porque siempre tiene un comentario divertido que te alegra el día y, sobre todo, por su “¡Monterín!”.

A Marga, porque su voluntad y su dedicación al trabajo (aunque suponga estar en el laboratorio o en el despacho a horas intempestivas...) es todo un ejemplo a seguir.

A Laura, por ese buen rollo que sabe demostrar tanto en la universidad como en algún que otro congreso que hemos compartido...

A Mabe, por su apoyo y ayuda a lo largo de todos estos años.

A Roser, por sus ánimos, por ser una persona con la que siempre se puede contar y por toda la ayuda prestada en cuestión de libros, estadística, etc. y siempre con esa eficiencia que le caracteriza.

A Ferrán, por sus palabras de ánimo y apoyo durante la redacción de la tesis y, sobre todo, durante el período de “cuarentena”.

A José, porque trabajar en un laboratorio donde todo está siempre en su sitio y a punto es siempre de agradecer y también por amenizarme mis horas allí dentro compartiendo conmigo sus historias.

A Carles, a Sandra, a Herme y a Núria Satorra, en definitiva, a los veteranos con los que he podido compartir, siendo compañeros de despacho, de congresos y de alguna que otra fiestecilla, muchos momentos de diversión, risas, bailoteos y resacas, ¡ah, sí! y de trabajo.

A Núria Boix, a Anna Gatell, a Trine y a MaFer, es decir, al nuevo reemplazo, porque gracias a estas chicas los momentos de diversión y risas (las resacas están por llegar) han continuado en el despacho, bueno, también el trabajo... Y, en especial a Núria, porque su trabajo y su colaboración en parte de los experimentos de esta tesis son realmente impagables.

A Elena y a Noe, porque siempre es reconfortante ver una cara amiga después de haber estado mil horas trabajando, incluyendo fines de semana y fiestas (no os

preocupéis chicas que ya queda poco...), y por esos momentos de “explícame tus penas” que también hemos compartido.

A Elvira y a Miquel, porque a pesar de que tuvieron un paso por el laboratorio más fugaz han conseguido dejar su huella (incluso en formato póster).

A Mercè, porque siempre se ha mostrado dispuesta a prestarme su ayuda.

A Cristina, por un millón de cosas, o quizás más, por su ayuda en cuestiones de trabajo, por esos momentos de “catarsis” que hemos compartido, por haber sido mi confidente, por saber escuchar y comprender y porque con amigas como ella la vida es siempre más fácil.

A toda la gente de Fisio, en especial a Xavi, a Sheila, a Cristina (la de antes) y a Natalia (aunque ahora se haya mudado), porque tener compañeros de doctorado como ellos con los que compartir los momentos buenos y menos buenos del trabajo ha sido realmente toda una suerte para mí.

A todos los miembros de la AENC, en especial a los de la última generación: Esther, Guillem, Hugo, Xavi, Mar, Raúl, Quino, Cristina y Jovita, porque rodearse de gente con iniciativa y con ganas de trabajar en nuevos proyectos hace que la dedicación merezca la pena. Bueno, y por esas increíbles neurofarras...

A toda la gente de la UNED, en especial a Fèlix, a Joan, a José Luís, a Miquel, a Albert, a Cesca, a Antoni y a Jaume, por esos buenos momentos en la sala de profes y en esas “ligeras” cenas que compartimos.

A toda la gente de Iowa City, a Eduardo, a Sahib, a Alicia, a Aaron, a Armando, a Lavanya, a Nasir, a Tony... por hacer que mi estancia en tierras americanas fuese realmente inolvidable, por su ayuda en todo momento y por sus ánimos “vía e-mail” durante el tiempo de redacción de la tesis. Y en especial, a Ralph Adolphs por procurar en todo momento que no perdiese detalle de ninguno de los experimentos que se estaban realizando en el hospital y por esos cafés (de los buenos) a los que me invitaba cada día.

A Albert, por preocuparse siempre por mí, por mi trabajo, por mis asuntos de tipo “príncipe de las mareas”, por haber sido siempre sincero conmigo y porque es una suerte tener un amigo como él.

A mis amigos Eli, Nolla, Lore, Fre y Antonio, porque es de agradecer que “los de siempre” hayan continuado siempre ahí a pesar de mis largas ausencias.

A mi familia: a mis padres porque siempre me han apoyado en todas mis decisiones de forma incondicional y por haber comprendido, o al menos, aguantado, las horas y horas de dedicación a la tesis y las ausencias que eso ha implicado. A mi abuela, porque a su manera también ha intentado comprender este “trabajo” que tengo. A mi hermano, por esa ayuda técnica en cuestiones de diseño y por su interés acerca de esto de los experimentos con las ratas. A Carmen, por esas llamadas inesperadas al despacho, por sus intentos para que me relajase y desconectase un poco del trabajo y, en definitiva, por ese halo de alegría que siempre le acompaña.

ABREVIATURAS

5CSRTT	Tarea de tiempo de reacción ante un estímulo en series de cinco elementos (<i>five-choice serial reaction time task</i>)
ABL	Amígdala basolateral
ACG	Aversión condicionada al gusto
ACh	Acetilcolina
ASM	Área septal medial
BDBh	Rama horizontal de la banda diagonal de Broca
BDBv	Rama vertical de la banda diagonal de Broca
EC	Estímulo condicionado
EEG	Electroencefalograma
EI	Estímulo incondicionado
EIC	Estimulación eléctrica intracraneal
EV2	Evitación activa de dos sentidos
GPv	Globo pálido ventral
HL	Hipotálamo lateral
LC	<i>Locus coeruleus</i>
LTD	Núcleo laterodorsal mesencefálico
NAc	Núcleo <i>accumbens</i>
NBM	Núcleo basal magnocelular
NPOM	Núcleo preóptico magnocelular
PB	Prosencéfalo basal
PF	Núcleo parafascicular del tálamo
PPT	Núcleo pedunculopónico tegmental mesencefálico
RD	Núcleo del rafe dorsal
SI	Sustancia <i>innominata</i>
SM	<i>Septum</i> medial

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
I. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS GENERALES	5
II. ANTECEDENTES EXPERIMENTALES	13
1. NEUROANATOMÍA Y NEUROQUÍMICA DEL PROSENCÉFALO BASAL.....	15
1.1. Localización anatómica	15
1.2. Población neuronal.....	16
1.3. Aferencias.....	19
1.4. Eferencias.....	21
2. RELACIONES FUNCIONALES DEL NÚCLEO BASAL MAGNOCELULAR	27
2.1. Regulación del <i>arousal</i> cortical.....	27
2.1.1. Principales sistemas de modulación del <i>arousal</i> cortical	28
2.1.2. Convergencia de sistemas de modulación en el NBM.....	29
2.1.3. Proyecciones corticales del NBM y regulación de los estados de sueño y vigilia.....	31
2.1.4. Papel de la acetilcolina en la modulación del <i>arousal</i> cortical	32
2.1.5. Implicación de otros sistemas de neurotransmisión en la modulación del <i>arousal</i> cortical	34
2.1.6. Relación entre <i>arousal</i> cortical y procesos cognitivos	35
2.2. Procesos de atención	37
2.2.1. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en los procesos de atención.....	37
2.2.2. Regulación de los procesos de atención por el NBM: Planteamientos teóricos	43
2.3. Aprendizaje y consolidación de la memoria	47
2.3.1. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la adquisición de la información.....	47
2.3.2. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la consolidación de la memoria	53
2.4. Recuperación de la información	58
2.5. Papel general del NBM en los procesos cognitivos.....	60

2.6. Procesos de plasticidad sináptica.....	63
2.6.1. Estimulación eléctrica del NBM, activación cortical y liberación colinérgica.....	63
2.6.2. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la plasticidad cortical.....	64
2.6.2.1. Plasticidad cortical inducida por aprendizaje	64
2.6.2.2. Plasticidad cortical inducida por la estimulación eléctrica del NBM.....	66
2.6.2.3. Variables que influyen en la plasticidad inducida por la estimulación eléctrica del NBM.....	70
2.6.3. Mecanismos de inducción de la plasticidad cortical.....	73
III. TRABAJO EXPERIMENTAL	77
1. EXPERIMENTO I.....	80
1.1. Objetivos y procedimiento	80
1.2. Resumen de los resultados	82
1.3. Presentación del trabajo.....	83
2. EXPERIMENTO II.....	91
2.1. Objetivos y procedimiento	91
2.2. Resumen de los resultados	93
2.1. Presentación del trabajo.....	95
IV. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	111
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	121

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El objetivo general planteado en la presente tesis doctoral consiste en analizar los efectos de la estimulación eléctrica intracraneal (EIC) del núcleo basal magnocelular (NBM) sobre los diferentes estadios del aprendizaje y la formación de la memoria de una tarea de evitación activa de dos sentidos (EV2) en ratas. Este objetivo experimental se enmarca dentro de las líneas generales de investigación de nuestro laboratorio denominadas *Mecanismos neurofisiológicos implicados en la reversión funcional, mediante estimulación eléctrica del cerebro, de alteraciones cognitivas en modelos animales de Alzheimer y amnesia diencefálica*, dirigida por la profesora Margarita Martí Nicolovius, y *Potenciación y recuperación de la memoria por estimulación eléctrica intracraneal en ratas normales y con daño cerebral*, coordinada por el profesor Ignacio Morgado Bernal. Ambas líneas de investigación plantean como una de sus principales finalidades el establecer modelos básicos de facilitación del aprendizaje y de la memoria de diversos tipos de tareas mediante la estimulación de estructuras que, como el NBM, forman parte de sistemas neuromoduladores del cerebro. En este sentido, el avance en el conocimiento de sistemas cerebrales cuya activación potencia procesos cognitivos podrá contribuir al desarrollo de procedimientos que optimicen la eficacia del procesamiento y la retención de información en sujetos con bajas capacidades de aprendizaje y/o con determinadas patologías neurodegenerativas como, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

Los trabajos de esta tesis doctoral se presentan en forma de compendio de publicaciones. El primero de los artículos lleva por título *Nucleus basalis magnocellularis electrical stimulation facilitates two-way active avoidance retention, in rats* y fue publicado en el año 2001 en la revista *Brain Research* (vol. 900:337-341). Dado que este artículo constituyó la primera evidencia experimental que muestra efectos facilitadores de la EIC del NBM directamente sobre la retención de una tarea conductual de aprendizaje consideramos importante publicarlo en forma de *short communication*, ya que este tipo de formato de publicación permitía dar a conocer con rapidez los resultados experimentales obtenidos al resto de la comunidad científica. En este trabajo se estudia el efecto de la aplicación del tratamiento de EIC del NBM post-entrenamiento en un paradigma masivo de condicionamiento de EV2. Los resultados muestran un efecto facilitador del tratamiento sobre la retención de esta tarea, tanto a corto como a largo plazo, evidenciándose especialmente en aquellos sujetos experimentales que presentan un nivel inicial de aprendizaje bajo.

El segundo de los artículos, titulado *Effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-way active avoidance acquisition, retention, and retrieval* y publicado en el año 2004 en la revista *Behavioural Brain Research* (en prensa), tiene como principal objetivo evaluar el efecto de la EIC del NBM sobre diversos procesos cognitivos (adquisición, retención y recuperación de la información) que tienen lugar a lo largo del aprendizaje de la tarea de EV2, con la intención de dilucidar la contribución específica del núcleo en dichos procesos. Los experimentos expuestos en este artículo ponen de manifiesto que la EIC del NBM facilita la adquisición del condicionamiento de EV2, mientras que la consolidación y la recuperación de la información ya adquirida no se ven significativamente afectadas con los parámetros de estimulación específicos utilizados en este trabajo.

La presente tesis doctoral está organizada en cuatro secciones principales. En la primera parte, se presenta el planteamiento y los objetivos generales de los diversos experimentos realizados enmarcándolos dentro del contexto experimental en el que se inscribe la tesis. En segundo lugar, se expone una revisión concisa y actualizada de los antecedentes teóricos y empíricos existentes en la literatura científica en relación al NBM. Concretamente, en este apartado se describen, por un lado, las principales características neuroanatómicas y neuroquímicas del prosencéfalo basal (PB), región del cerebro de la que forma parte el NBM, y por otro, las funciones en las que este núcleo se halla implicado, como son la regulación de la activación cortical, los procesos cognitivos de atención, adquisición, consolidación de la memoria y recuperación de la información, así como también la plasticidad sináptica. En la tercera parte, presentamos los dos trabajos publicados acompañados de un breve resumen de la metodología, los objetivos y los principales resultados obtenidos. Para concluir esta tesis doctoral presentamos un apartado de discusión final y de conclusiones generales en el que se realiza un análisis del conjunto de resultados obtenidos, englobándolos dentro del marco general de identificación y descripción de sistemas cerebrales implicados en la facilitación de aprendizajes complejos y formación de la memoria.

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS GENERALES

I. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS GENERALES

En los últimos años, han sido numerosas las investigaciones centradas en el estudio del papel del NBM en los procesos cognitivos. El interés neurocientífico suscitado por esta estructura ha sido motivado en gran medida por el hecho de que una de las principales características de la enfermedad de Alzheimer es la degeneración de neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert (nomenclatura utilizada si se hace referencia a primates y humanos) (Ambroggi-Lorenzini y col., 1999; Braak y col., 1997; Cummings, 2000; Mesulam, 1996, 2004). La pérdida de memoria y de otros procesos cognitivos asociados a esta enfermedad ha sido atribuida en parte a dicha neurodegeneración (Dringenberg, 2000; Klingberg y Klengel, 1993; Lawrence y Sahakian, 1998; Samuel y col., 1994; Sassin y col., 2000; Wenk, 1997), aspecto que ha motivado a diversos investigadores a intentar encontrar modelos animales que reproduzcan estas características de la patología humana (Cole y Frautschy, 1997; Harkany y col., 1998; Haroutunian y col., 1997; McDonald y Overmier, 1998; Pepeu, 2001).

El NBM es una estructura principalmente colinérgica (Mesulam, 2004; Semba, 2000; Wenk, 1997) y es considerada como la principal fuente de acetilcolina (ACh) de la corteza cerebral (Détári y col., 1999; Mesulam y col., 1983; Szymusiak, 1995; Zaborszky y col., 1999) sobre la cual ejerce un efecto predominantemente excitador (Cape y col., 2000; Détári, 2000; Détári y col., 1999; Duque y col., 2000; Linster y Hasselmo, 2001). El sistema colinérgico del NBM desempeña un papel crítico en la neuromodulación de la actividad cortical (Jones, 2003; Sarter y Bruno, 2000; Zaborszky y Duque, 2003) tanto a través de sus proyecciones directas a prácticamente la totalidad de la corteza (Berntson y Sarter, 2002; Woolf, 1991) como de forma indirecta a través de las conexiones que establece con los núcleos talámicos que forman parte del denominado sistema tálamo-cortical (Détári y col., 1999; Jones, 2003; McCormick y Bal, 1997; Semba, 2000; Steriade, 2004). La eficacia del control activo que el NBM ejerce sobre la actividad de la corteza se halla notablemente influida por las aferencias procedentes de diferentes sistemas neuromoduladores, como el sistema reticular activador ascendente del tronco del encéfalo y el sistema tálamo-cortical (Détári y col., 1999; Givens y Sarter, 1997; Sarter y Bruno, 2000), que convergen en esta estructura (Dringenberg y Vanderwolf, 1998; Sarter y Bruno, 2000). Además, a pesar de que la ACh parece constituir uno de los principales sistemas neuroquímicos de *arousal* cortical, en los últimos años se ha demostrado la participación de otros sistemas de neurotransmisión como el GABAérgico, fundamentalmente, el glutamatérgico y el neuropeptidérgico (Duque y col., 2000; Fournier y col., 2004; Gritti y col., 2003; Manns y col., 2000a, b).

Numerosos estudios con animales de laboratorio han confirmado la contribución del sistema colinérgico del NBM en procesos como la atención (Sarter y col., 2001, 2003), la adquisición y la consolidación de la memoria (Miranda y col., 2003; Power y col., 2003). Dichos experimentos han evaluado los efectos de diversas manipulaciones del NBM como por ejemplo, las lesiones excitotóxicas o las lesiones selectivas de sus neuronas colinérgicas, inyecciones de fármacos y técnicas de microdiálisis *in vivo*. Respecto a la participación del NBM en procesos atencionales, se ha podido comprobar que tanto la lesión de esta estructura (Gill y col., 2000; Lehman y col., 2003; McGaughy y col., 2002; Risbrough y col., 2002) como la infusión de determinadas sustancias farmacológicas con acción sobre el sistema colinérgico (Holley y col., 1995; McGaughy y col., 1999; Turchi y Sarter, 2001a, b) producen deterioros significativos en tareas conductuales de atención sostenida. Además, el grado de déficit se agrava de forma proporcional al aumento de los recursos de atención requeridos para la correcta realización de la tarea (Butt y Bowman, 2002; Butt y col., 2002; McGaughy y col., 2002; Risbrough y col., 2002; Robbins y col., 1989). La correlación entre las demandas de atención y la actividad del sistema colinérgico del NBM ha sido estudiada a través de técnicas de microdiálisis *in vivo*. Estos estudios han demostrado que la realización de tareas que requieren atención sostenida está asociada a niveles elevados de ACh cortical (Arnold y col., 2002; Dalley y col., 2001; Himmelheber y col., 1997, 2000; McGaughy y col., 2002; Passetti y col., 2000), observándose incrementos mayores con el aumento de las demandas de atención (Himmelheber y col., 2000).

Por otro lado, el NBM también se ha relacionado ampliamente con los procesos de adquisición y de consolidación de la información (Baxter y Chiba, 1999; McGaughy y col., 2000; Parker y col., 2002). No obstante, a pesar de la obvia implicación de la atención en tales procesos (Sarter y col., 2003), existen numerosas evidencias que demuestran que la alteración de la función del NBM puede influir directamente en la adquisición y/o la retención de diversas tareas conductuales, independientemente de su papel sobre la atención (Bailey y col., 2003; Chudasama y col., 2004; Miranda y col., 2003; Power y col., 2003). En general, las líneas de investigación que han abordado el estudio de la participación del NBM en la adquisición y la consolidación de la memoria, tanto mediante técnicas de lesión como con manipulaciones farmacológicas, coinciden en señalar el destacado papel que esta estructura desempeña en los procesos cognitivos mencionados. De hecho, en nuestro laboratorio también hemos obtenido datos que apoyan la implicación del NBM en los procesos de aprendizaje y memoria mediante la lesión de esta estructura. Concretamente, se ha observado que la lesión electrolítica (Sos-Hinojosa y col., 2003; Vale-Martínez y col., 2002b) o con ácido iboténico (Vale-

Martínez y col., 2002b) pre-entrenamiento provoca deterioros en la retención a largo plazo del condicionamiento de EV2. Sin embargo, la diversidad de datos existentes en la literatura científica actual respecto a la contribución concreta del NBM en tales procesos no proporciona un panorama lo suficientemente esclarecedor como para determinar la función o funciones específicas de esta estructura. Por otra parte, son numerosos los trabajos que indican que la implicación del NBM en el aprendizaje y la memoria puede verse influida por diversos factores como, por ejemplo, la complejidad o las demandas cognitivas de las tareas conductuales (Turchi y Sarter, 2000; Vale-Martínez y col., 2002a; Wrenn y col., 1999), el grado de afectación de neuronas colinérgicas y no colinérgicas (Bailey y col., 2003; Bailey y Thomas, 2001; Power y col., 2002; Waite y Thal, 1996; Wenk, 1997), la participación de otras estructuras como la amígdala basolateral (ABL), implicada sobre todo en la consolidación de la memoria (Power y McGaugh, 2002a, b; Power y col., 2002, 2003) o, probablemente, una interacción de todas estas variables (McDonald y Overmier, 1998; Pizzo y col., 2002; Wrenn y col., 1999).

Todos estos datos coinciden en señalar que el NBM parece estar implicado en los primeros estadios del aprendizaje, cuando tienen lugar los procesos de atención, adquisición y consolidación de la información (Miranda y col., 2003; Orsetti y col., 1996; Vale-Martínez y col., 2002a), más que en estadios posteriores. A favor de esta hipótesis, diversos experimentos han mostrado ausencia de efectos con la utilización de diferentes estrategias metodológicas en la recuperación de la información de tareas previamente adquiridas (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Walsh y col., 1998). Estos resultados se hallan complementados con los obtenidos en estudios de microdiálisis *in vivo*. Así, se ha demostrado que la fase de adquisición de una determinada tarea está asociada a una significativa actividad neuronal del NBM (Orsetti y col., 1996) que va acompañada por incrementos en la liberación de ACh cortical (Miranda y col., 2000; Orsetti y col., 1996). Se ha observado además que este incremento perdura tras la finalización de la sesión de entrenamiento cuando, probablemente, tienen lugar los procesos de consolidación de la memoria (Kopf y col., 2001; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Orsetti y col., 1996), y disminuye progresivamente a lo largo del proceso de formación de la memoria (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000).

La implicación del NBM en diversos procesos cognitivos ha sido vinculada estrechamente a su papel en la regulación de la excitabilidad de las neuronas de la corteza (Cruikshank y Weinberger, 1996; Everitt y Robbins, 1997; Hohmann, 2003; Lucas-Meunier y col., 2003; Rasmusson, 2000). En este sentido, se considera que las proyecciones colinérgicas del NBM proporcionan las condiciones neurales óptimas para

que tengan lugar determinados acontecimientos fisiológicos relacionados con los mecanismos de plasticidad sináptica subyacentes a los procesos de aprendizaje y memoria (Gill y col., 2000; Sarter y col., 2003; Weinberger, 2003). La participación del NBM en la inducción de plasticidad neural ha sido estudiada fundamentalmente a través de la técnica de EIC (Weinberger, 2003). Estos estudios ponen de manifiesto que la activación del NBM genera una serie de cambios corticales estructurales y neuroquímicos que se traducen en una potenciación de las respuestas neuronales ante la presencia de determinados estímulos sensoriales (Rasmusson, 2000; Verdier y Dykes, 2001; Weinberger, 2003) y en procesos de reorganización cortical (Bjordahl y col., 1998; Kilgard y Merzenich, 1998). Además, estos cambios se acompañan de liberación colinérgica (Casamenti y col., 1986; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Kurosawa y col., 1989a, b; Rasmusson y col., 1992) y de desincronización del electroencefalograma (EEG) cortical (Bakin y Weinberger, 1996; Bjordahl y col., 1998; Edeline y col., 1994a; Golmayo y col., 2003; McLin III y col., 2002a, b, 2003; Metherate y Ashe, 1991; Metherate y col., 1992) lo que indica una estrecha relación entre *arousal* cortical, ACh y plasticidad sináptica.

Considerando globalmente los datos comentados hasta el momento podemos asumir que el NBM es una estructura vinculada a sistemas de activación cerebral y de plasticidad neural, ambos mecanismos fisiológicos subyacentes a diversos procesos cognitivos (atención, adquisición y consolidación de la memoria). Además, los datos expuestos también indican que los mecanismos implicados en los procesos generales de aprendizaje y memoria pueden verse modificados por medio de diversas estrategias experimentales. Ello es posible a que dichos procesos son lentos y graduales, y requieren de cambios moleculares y estructurales en las neuronas de los circuitos cerebrales implicados. Además, son procesos que presentan períodos críticos en los que la aplicación de determinados tratamientos pueden modificar, bien deteriorando o bien facilitando, los mecanismos neurales subyacentes.

En este sentido, en los últimos años nuestro laboratorio ha establecido modelos conductuales de facilitación del aprendizaje y la memoria utilizando principalmente el condicionamiento de EV2, en ratas. Esta tarea ha sido escogida, entre otras razones, por su complejidad y porque muestra similitudes importantes con la adquisición de algunos comportamientos complejos por parte de los humanos. Este tipo de paradigma permite evaluar la adquisición y el recuerdo implícito de una tarea de tipo asociativo que combina componentes de condicionamiento clásico y de condicionamiento instrumental. Por un lado, el sujeto debe aprender la asociación entre un estímulo neutro (en este caso, un tono) y un ligero *shock* eléctrico en las patas (estímulo incondicionado) y, por otro, debe

realizar una conducta (pasar al otro lado de la jaula) para evitar el estímulo aversivo. Además, tal y como sucede en determinados aprendizajes en los humanos, las ratas están desigualmente dotadas para aprender este condicionamiento (Schwegler y Lipp, 1981; Schwegler y col., 1981), es decir, algunos animales lo adquieren con relativa facilidad, mientras que otros necesitan más sesiones de entrenamiento para conseguirlo o no llegan a aprenderlo nunca (Morgado-Bernal, 1997). Este aspecto es de especial relevancia ya que hace posible el análisis de variables como las diferencias individuales mostradas por los sujetos en el aprendizaje de la tarea.

Uno de los procedimientos utilizados en nuestro laboratorio para el estudio de los mecanismos neurales subyacentes a los procesos de facilitación del aprendizaje y la memoria es la estimulación eléctrica. Se han llevado a cabo diversos experimentos que han verificado el efecto facilitador de la estimulación aplicada al hipotálamo lateral (HL) (Aldavert-Vera y col., 1996; Massanés-Rotger y col., 1998; Redolar-Ripoll y col., 2002; Segura-Torres y col., 1988, 1991; Soriano-Mas, 2002), que forma parte del sustrato neural del refuerzo (Schultz, 2000), o al núcleo parafascicular del tálamo (PF), (Guillazo-Blanch y col., 1995, 1999; Sos-Hinojosa y col., 2000; Vale-Martínez y col., 1998), que forma parte del sistema tálamo-cortical (Jones, 2003). Estos efectos facilitadores parecen ser debidos en gran parte a la inducción de estados de *arousal* cortical y subcortical tras la activación artificial de estas estructuras (Destrade y Jaffard, 1978; Sherman y Guillery, 2001; Steriade, 1996). Tales estados de activación neural promueven la excitabilidad de las neuronas de la corteza y de otras estructuras telencefálicas, modulando mecanismos de plasticidad neuronal y, en última instancia, facilitando procesos cognitivos (Cahill y McGaugh, 1998; Corbetta y Shulman, 2002; Marrocco y col., 1994; Nielson y col., 1996; Robbins, 1997). Un aspecto importante a destacar es que los efectos facilitadores de los tratamientos de estimulación eléctrica parecen no afectar por igual a todos los sujetos experimentales. Concretamente, se ha observado que los efectos son especialmente potentes en los sujetos que presentan niveles de aprendizaje inicial más bajos en el condicionamiento de EV2 (Aldavert-Vera y col., 1996; Guillazo-Blanch y col., 1999).

Por lo tanto, parece que las técnicas de estimulación eléctrica resultan altamente eficaces como tratamientos capaces de facilitar procesos de aprendizaje y memoria y de inducir mecanismos de plasticidad sináptica subyacentes a dichos procesos. En consecuencia, sería plausible pensar que la EIC del NBM aplicada durante períodos críticos del procesamiento de la información podría generar activación neuronal, probablemente a través del aumento de la liberación colinérgica cortical y subcortical (especialmente de la ABL; Power y McGaugh, 2002a, b). Dicha activación proporcionaría

las condiciones óptimas para facilitar los cambios neurales necesarios para mejorar y/o fortalecer las conexiones nerviosas subyacentes a los procesos implicados en el aprendizaje y la memoria. De hecho, la constatación de que la EIC del NBM induce procesos de plasticidad sináptica cortical (Kilgard y Merzenich, 1998; Weinberger, 2003) ha llevado a considerar este núcleo como un sustrato neural para procesos cognitivos como la adquisición y el almacenamiento de aspectos específicos de la experiencia (McLin III y col., 2003; Weinberger, 1998). Sin embargo, la plasticidad en sí misma no constituye realmente el aprendizaje o la consolidación de la memoria, ya que estos procesos son propiedades conductuales y, en consecuencia, sólo pueden ser inferidos a través del análisis del comportamiento (Cahill y col., 2001).

En la literatura científica actual existen únicamente dos trabajos que han evaluado los efectos de la activación del NBM mediante EIC sobre variables conductuales (McLin III y col., 2002a, 2003). El objetivo general de estos experimentos era establecer un vínculo de unión entre la activación de esta estructura y los procesos de memoria evaluados a través de cambios en la tasa cardíaca y respiratoria, es decir, índices conductuales de tipo autonómico. Los resultados mostraron que, efectivamente, la estimulación del NBM asociada contingentemente a la presentación de un estímulo condicionado generaba cambios a largo plazo en las medidas analizadas. Sin embargo, los trabajos de McLin III y col. no analizaron directamente los efectos de la activación del NBM sobre tareas conductuales específicamente diseñadas para evaluar procesos de aprendizaje y memoria.

En este contexto y bajo la hipótesis de que el NBM está básicamente implicado en procesos de atención, codificación y consolidación de la información, nos planteamos los siguientes objetivos generales:

- Analizar la contribución del NBM en la adquisición, la consolidación de la memoria y la recuperación de la información de la tarea de EV2, mediante la aplicación de la EIC en diferentes momentos del proceso de condicionamiento.
- Evaluar posibles diferencias individuales en la capacidad del tratamiento de EIC del NBM para modular el condicionamiento.
- Estudiar los posibles efectos de la variación de parámetros de la EIC en la modulación de los procesos implicados en la adquisición, la retención y el recuerdo de la tarea.

ANTECEDENTES EXPERIMENTALES

II. ANTECEDENTES EXPERIMENTALES

1. NEUROANATOMÍA Y NEUROQUÍMICA DEL PROSENCÉFALO BASAL

El NBM forma parte del PB, uno de los sistemas de neuromodulación del cerebro. Los diversos estudios anatómicos y neuroquímicos coinciden en señalar que es una región heterogénea tanto en lo que respecta a la población neuronal que la constituye como a sus proyecciones encefálicas. Esta heterogeneidad no solamente otorga a esta región una gran complejidad, sino que también le proporciona unas propiedades idóneas que la convierten en una estructura clave para llevar a cabo funciones como la regulación de la actividad cortical o la modulación de procesos cognitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria (Baxter y Chiba, 1999; Détári y col., 1999; Mesulam, 2004; Rasmusson, 2000; Wenk, 1997), aspectos que serán comentados en los próximos apartados de la presente tesis doctoral.

A continuación, se describirán las principales características anatómicas y neuroquímicas del PB, haciendo especial énfasis en las aferencias y eferencias del NBM.

1.1. LOCALIZACIÓN ANATÓMICA

El PB es una región localizada en la base del cerebro, en posición anterior al hipotálamo y ventral a los ganglios basales. A nivel frontal, limita con el tubérculo olfatorio y el núcleo *accumbens* (NAc), mientras que lateralmente lo hace con el complejo amigdaloides y la corteza piriforme (Détári y col., 1999; Semba, 2000). Esta estructura está constituida por tres grandes áreas: la primera, localizada en la zona más rostral, es la denominada área septal medial (ASM). Esta región está a su vez constituida por el *septum* medial (SM) y la rama vertical de la banda diagonal de Broca (BDBv). La zona más caudal del PB corresponde a la región del NBM que incluye también el globo pálido ventral (GPv) y la sustancia *innominata* (SI) [ver figura 1.1.1.]. La tercera de las áreas está formada por la rama horizontal de la banda diagonal de Broca (BDBh) y el núcleo preóptico magnocelular (NPOM) (Givens y Sarter, 1997; Semba, 2000; Wenk, 1997). La organización anatómica del PB es similar entre las especies animales, aunque existen ciertas diferencias sobre todo en lo que respecta al NBM. En los primates esta estructura, denominada núcleo basal de Meynert (Baxter, 2000; Mesulam, 1995b, c), se caracteriza

por ser más compacta comparándola con otros animales como los gatos o las ratas en los que el NBM es más difuso (Szymusiak, 1995). Este es el motivo por el que diversos autores hacen referencia a esta región del PB como NBM/SI, englobando ambos núcleos bajo el mismo término dada la dificultad de establecer unos límites anatómicos claros entre ellos (Givens y Sarter, 1997; Mesulam y col., 1983).

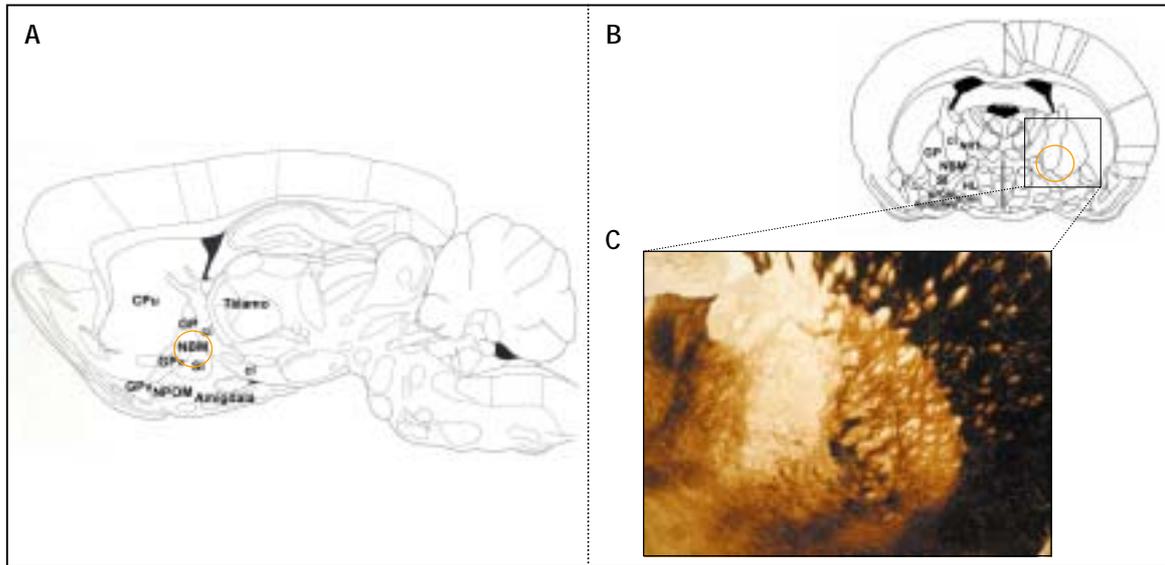


Figura 1.1.1.: Localización anatómica del NBM y de las principales estructuras circundantes en una sección sagital (A) (2.40 mm de lateralidad desde Bregma) y coronal (B) (1.30 mm posterior a Bregma) del cerebro de rata (Paxinos y Watson, 1997). (C) Microfotografía de la región correspondiente al NBM en una tinción inmunohistoquímica para acetilcolinesterasa (aumento 40x). [BDBh: rama horizontal de la banda diagonal de Broca; ci: cápsula interna; CPu: núcleos caudado y putamen; GP: globo pálido; GPv: globo pálido ventral; HL: hipotálamo lateral; NBM: núcleo basal magnocelular; NPOM: núcleo preóptico magnocelular; NRT: núcleo reticular talámico; SI: sustancia *innominata*].

1.2. POBLACIÓN NEURONAL

El PB está constituido por una población mixta y heterogénea de neuronas, tanto respecto al neurotransmisor que contienen como desde el punto de vista morfológico, que se evidencia en toda su extensión rostrocaudal. A pesar de ello, ya desde principios de los años 80 se ha considerado que el PB es una región fundamentalmente **colinérgica** (Fibiger, 1982; Mesulam, 2004; Semba y Fibiger, 1989; Woolf, 1991). Estructuralmente, las neuronas colinérgicas se caracterizan por ser neuronas de gran tamaño (18-43 μm), con largos axones y extensos árboles dendríticos, multipolares y con somas

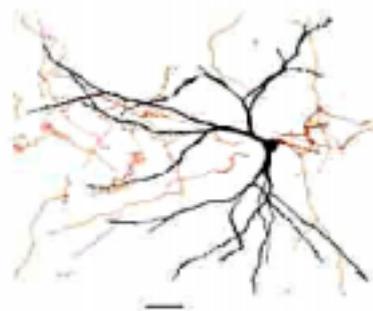


Figura 1.2.1.: Neurona colinérgica del área del NBM (escala: 50 μm). Adaptado de Zaborszky y Duque, 2003.

habitualmente ovalados o fusiformes (Butcher, 1995; Détári y col., 1999; Semba, 2000) [ver figura 1.2.1].

Las células colinérgicas forman una constelación neuronal a lo largo de todos los núcleos del PB (Butcher, 1995; Semba, 2000; Wenk, 1997) configurando el denominado complejo nuclear colinérgico basal (Butcher, 1995) [ver figura 1.2.2].

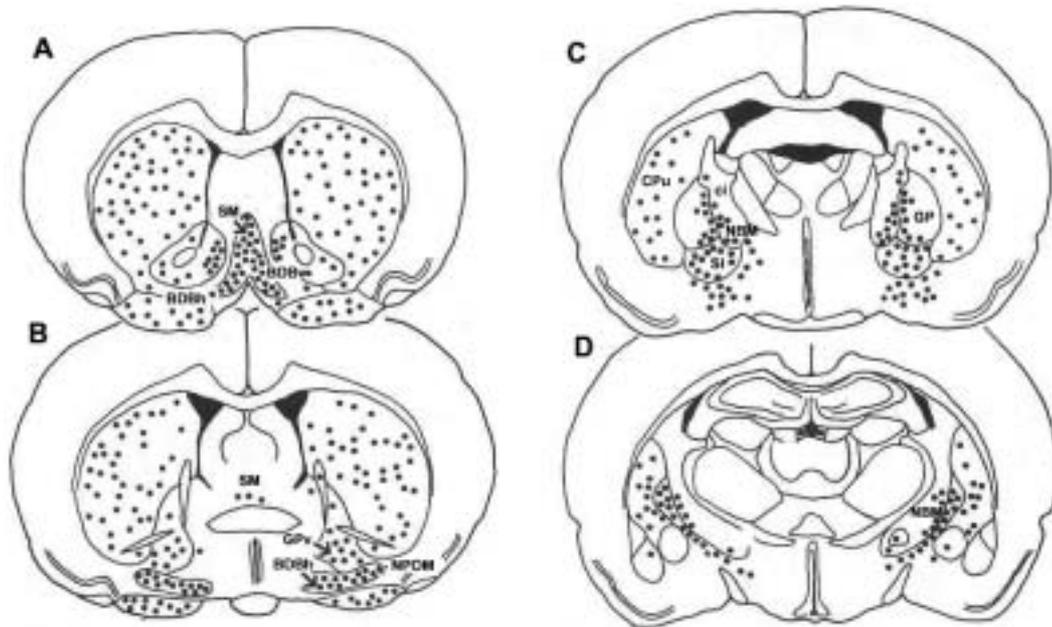


Figura 1.2.2.: Representación esquemática de la distribución de las neuronas colinérgicas de los diferentes núcleos del PB a lo largo de diversas secciones coronales del cerebro de rata. Las secciones corresponden a las coordenadas 0.70 mm anterior a Bregma (A) y 0.3 mm (B), 1.30 mm (C) y 2.30 mm (D) posterior a Bregma, según el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1997). [BDBh: rama horizontal de la banda diagonal de Broca; BDBv: rama vertical de la banda diagonal de Broca; ci: cápsula interna; CPU: núcleos caudado y putamen; GP: globo pálido; GPv: globo pálido ventral; NBM: núcleo basal magnocelular; NPOM: núcleo preoptico magnocelular; SI: sustancia *innominata*; SM: *septum medial*]. Adaptado de Butcher, 1995.

Las neuronas colinérgicas del PB presentan unas características propias que las hacen diferentes de las células colinérgicas de otras regiones cerebrales. Por ejemplo, se ha observado que un elevado porcentaje de estas neuronas expresan receptores para el factor de crecimiento nervioso p75 (Batchelor y col., 1989), a excepción de las del NBM que proyectan a la ABL (Heckers y col., 1994). Esta característica es de especial relevancia desde el punto de vista experimental ya que permite el uso de la inmunotoxina 192IgG saporina¹ para lesionar selectivamente las neuronas colinérgicas del PB (Détári y col., 1999; McGaughy y col., 2000; Wiley y col., 1995). Otra peculiaridad a destacar es la

¹ La 192 inmunoglobulina G saporina es un compuesto constituido por una molécula de saporina, toxina que inactiva los ribosomas, combinada con un anticuerpo monoclonal (192 IgG) para el receptor de baja afinidad del factor de crecimiento nervioso (p75). Existe un alto grado de correspondencia entre el fenotipo colinérgico y la expresión de este tipo de receptor en el PB (Heckers y col., 1994).

colocalización de determinadas sustancias en algunas subpoblaciones de neuronas colinérgicas del PB. Un ejemplo de ello es la galanina (O'Meara y col., 2000; Planas y col., 1997) o el óxido nítrico sintasa (Kitchener y Diamond, 1993; Peng y col., 1994; Tong y Hamel, 2000), que coexisten con la ACh en células fundamentalmente localizadas en el SM y la BDBv.

En el PB las neuronas colinérgicas se encuentran entremezcladas con otras poblaciones neuronales, de entre las cuales la más destacada es la constituida por neuronas **GABAérgicas** (Sarter y Bruno, 2002; Semba, 2000). Morfológicamente, estas células son de menor tamaño que las colinérgicas (<15µm) pudiendo desempeñar muchas de ellas funciones de interneuronas (Détári y col., 1999; Semba, 2000). No obstante, son varios los estudios que han mostrado la existencia de una importante subpoblación de estas células que presentan un tamaño mayor y que, además, son neuronas de proyección cortical (Fisher y col., 1988; Gritti y col., 1993; Walter y col., 1989). A pesar de que anatómicamente las neuronas colinérgicas y GABAérgicas se hallan solapadas, la distribución de éstas a lo largo de las diferentes estructuras del PB no es homogénea (Détári y col., 1999). Concretamente, se ha observado que en el área correspondiente al NBM y a la SI la proporción entre células colinérgicas y GABAérgicas es de 9:1, mientras que en el ASM es de 1:1 (Givens y Sarter, 1997).

Junto con las poblaciones neuronales previamente mencionadas, el PB también contiene neuronas **glutamatérgicas** (Fremeau y col., 2001; Henny y col., 2002; Hur y col., 2002; Manns y col., 2001) y **neuropeptidérgicas**, incluyendo estas últimas neurotransmisores como la somatostatina, el neuropéptido Y, la encefalina, la sustancia P o la galanina (Détári y col., 1999; Jones y Mühlethaler, 1999; Mesulam, 1995c; Mufson y col., 2000; Reiner y Fibiger, 1995; Semba, 2000). Esta última destaca por ser el péptido más abundante en el PB y por su efecto modulador sobre la transmisión colinérgica (De Lacalle y col., 1997; Henderson y Morris, 1997; Steiner y col., 2001).

Además de los diferentes neurotransmisores presentes en las diversas estructuras del PB, la heterogeneidad neuroquímica también se hace evidente por la presencia de sustancias químicas que suelen hallarse colocalizadas con determinados neurotransmisores. Tal es el caso de las **proteínas de unión al calcio**, como la parvalbúmina, la calbindina D-28k o la calretinina, las cuales se encuentran colocalizadas principalmente en subpoblaciones de neuronas GABAérgicas y colinérgicas (Brauer y col., 1991; Geula y col., 1993; Gritti y col., 1999; Kiss y col., 1990; Smith y col., 1994). No obstante, es importante destacar que un estudio muy reciente ha señalado la presencia de calbindina D28-k y calretinina también en neuronas aparentemente glutamatérgicas

(Gritti y col., 2003). Por otro lado, también se ha demostrado la presencia de diversas **neurotrofinas**, como el factor de crecimiento nervioso, el factor neurotrófico derivado del cerebro o la neurotrofina-3, las cuales actúan como factores tróficos para diferentes neuronas colinérgicas del PB, principalmente para las de proyección hipocampal y neocortical (Ernfors y col., 1990; Kawamoto y col., 1999).

1.3. AFERENCIAS

A diferencia del gran interés suscitado por las proyecciones eferentes del PB [ver apartado 1.4.] debido, en gran parte, a sus importantes efectos sobre la corteza, la atención despertada por el estudio de sus aferencias ha sido significativamente menor. No obstante, la identificación del origen de los *inputs* de información que reciben las diferentes estructuras del PB es una cuestión de gran relevancia dado que pueden ejercer una influencia notable sobre la actividad de las proyecciones corticales y subcorticales del PB y, por ende, sobre las consecuencias a nivel conductual y/o cognitivo (Gaykema y col., 1991; Sarter y Bruno, 2000; Zaborszky y col., 1999).

El PB recibe aferencias de una gran variedad de estructuras troncoencefálicas, diencefálicas y límbicas, así como también de la propia neocorteza, aferencias en las que intervienen una heterogénea variedad de sistemas de neurotransmisión (Semba y Fibiger, 1989; Zaborszky y col., 1991, 1999). En general, las aferencias procedentes de estructuras troncoencefálicas proyectan directamente a todos los niveles rostrocaudales del PB, mientras que las procedentes del diencefalo y de estructuras telencefálicas tienden a mostrar una mayor selectividad (Détári y col., 1999).

Del **tronco del encéfalo** el PB recibe *inputs* glutamatérgicos y colinérgicos de los núcleos laterodorsal (LTD) y pedunculopónico tegmental (PPT) del mesencéfalo; glutamatérgicos de la formación reticular pontina; glutamatérgicos y serotoninérgicos de los núcleos del rafe dorsal (RD) y medial; colinérgicos del *tegmentum*, región de la que el PB también recibe aferencias de fibras que contienen el neuropéptido neurotensina; noradrenérgicos del *locus coeruleus* (LC) y dopaminérgicos del área tegmental ventral y de la sustancia negra *pars compacta* (Consolo y col., 1990; Détári y col., 1999; Gaykema y Zaborszky, 1996; Givens y Sarter, 1997; Jones y Cuello, 1989; Lavoie y Parent, 1994; Morin y Beaudet, 1998; Rasmusson y col., 1994; Semba y col., 1988). Respecto al NBM en concreto son de destacar las aferencias noradrenérgicas provenientes del LC (Jones y Cuello, 1989; Losier y Semba, 1993), las colinérgicas y glutamatérgicas procedentes del

LTD y del PPT (Jones y Cuello, 1989; Woolf y Butcher, 1986) y las glutamatérgicas del RD (Carnes y col., 1990).

Por otro lado, el PB también recibe aferencias de diversas estructuras **prosencefálicas**. El NBM recibe *inputs* de la corteza límbica, de los núcleos caudado y putamen, del NAc, de los núcleos intralaminares del tálamo, de la ABL y amígdala central, del hipotálamo, de los núcleos subtalámicos y de diversas regiones de la neocorteza como la corteza orbitofrontal, la entorrinal o la temporal medial (Carnes y col., 1990; Détári y col., 1999; Gaykema y col., 1991; Givens y Sarter, 1997; Mesulam y Mufson, 1984; Sarter y Bruno, 2000; Semba, 2000; Zaborsky y col., 1997).

Los sistemas de neurotransmisión implicados en las aferencias al NBM, tanto del tronco del encéfalo como de estructuras prosencefálicas, son considerablemente heterogéneos. Por ejemplo, encontramos *inputs* fundamentalmente GABAérgicos, aunque también dopaminérgicos y neuropeptidérgicos (sustancia P), procedentes del NAc (Détári y col., 1999; Gritti y col., 1993; Napier y col., 1995; Zaborszky y Cullinan, 1992) y aferencias glutamatérgicas principalmente de origen cortical y amigdalino (Carnes y col., 1990; Gaykema y col., 1990; Zaborszky y col., 1997), aunque también del PPT y del RD (Carnes y col., 1990). Asimismo, se han podido identificar numerosos botones terminales de neuronas peptidérgicas que contienen neurotransmisores como la sustancia P, las encefalinas, la neurotensina y la galanina, parte de las cuales parecen proceder del hipotálamo (Détári y col., 1999; Givens y Sarter, 1997; Morin y Beaudet, 1998; Zaborszky y col., 1997). De esta última estructura forman parte los núcleos tuberomamilares desde los que el NBM recibe importantes aferencias histaminérgicas (Bacciottini y col., 2001; Brown y col., 2001; Cecchi y col., 2001; Chen y Shen, 2002), y los núcleos perifornicales que envían proyecciones en las que el neuropéptido principal son las orexinas (Nambu y col., 1999; Peyron y col., 1998).

A nivel postsináptico, las neuronas colinérgicas del NBM establecen sinapsis con aferencias procedentes principalmente de la amígdala, del estriado dorsal y ventral, del hipotálamo, del LC, del NAc (Givens y Sarter, 1997; Henderson, 1997; Zaborszky y Cullinan, 1996; Zaborszky y col., 1984), de los núcleos tuberomamilares del hipotálamo (Bacciottini y col., 2001; Cecchi y col., 2001; Chen y Shen, 2002), del RD (Gasbarri y col., 1999), del PPT (Rasmusson y col., 1994) y de regiones de la neocorteza (Sarter y Bruno, 2000; Givens y Sarter, 1997; Zaborszky y col., 1997), mientras que las neuronas GABAérgicas reciben *inputs* originados en la corteza prefrontal (Gritti y col., 1997; Jones y Mühlethaler, 1999; Zaborszky y col., 1997) y en el PPT (Carnes y col., 1990).

Las regiones más mediales del PB, es decir, la BDBh y el NPOM, reciben importantes aferencias también del NAc, del GPv y del *septum* (Détári y col., 1999; Zaborszky y col., 1991). Más caudalmente, el ASM recibe sus principales aferencias desde el prosencéfalo de forma indirecta a través de las conexiones con el núcleo septal lateral (Givens y Sarter, 1997; Martin, 1998), el cual recibe *inputs* monoaminérgicos del LC, del área tegmental ventral y de núcleos del rafe (Gall y Moore, 1984; Jakab y Leranth, 1990) y aferencias glutamatérgicas de la formación hipocampal (Van der Zee y Luiten, 1994). A nivel postsináptico, el *septum* lateral envía proyecciones GABAérgicas a neuronas tanto colinérgicas como GABAérgicas del ASM (Givens y Sarter, 1997). La principal aferencia directa que recibe el ASM es de tipo histaminérgico y procede de los núcleos tuberomamilares del hipotálamo, estableciendo sinapsis con neuronas colinérgicas del ASM (Bacciottini y col., 2001; Cecchi y col., 2001; Chen y Shen, 2002).

1.4. EFERENCIAS

El PB proyecta a numerosas estructuras encefálicas, proyecciones en las que además participan diversos sistemas de neurotransmisión. A pesar de ello, los diferentes estudios anatómicos y farmacológicos sobre el PB han dedicado una atención considerable al estudio de las eferencias colinérgicas, no sólo por la gran densidad de proyecciones de este tipo sino también por su notable contribución en aspectos como la modulación de la actividad cortical (Metherate y col., 1992; Duque y col., 2000; Manns y col., 2000b; Rasmusson, 2000; Ramusson y col., 1992) o en procesos cognitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria (Everitt y Robbins, 1997; Givens y Sarter, 1997; McGaughy y col., 2000; Mesulam, 2004; Power y col., 2003; Sarter y col., 2003; Wenk, 1997).

Las proyecciones **colinérgicas** del PB se caracterizan por ser difusas, es decir, por presentar un patrón axonal especialmente disperso y extendido (Bear y col., 1998; Butcher, 1995). Además, estas eferencias muestran una organización topográfica concreta, lo cual ha permitido distinguir cuatro vías principales. De las neuronas colinérgicas localizadas en regiones más rostrales del PB, es decir, SM y BDBv, emerge el haz basalhipocampal. De estructuras más mediales surge la vía basalolfatoria, que se origina principalmente en la BDBh e inerva el bulbo olfatorio y núcleos asociados y la vía cortical medial, que proviene de neuronas colinérgicas de la BDBh y BDBv, del NPOM y de la SI y proyecta a regiones corticales mediales, destacando la corteza frontal medial, la corteza cingulada, la retrosplenial y la occipital medial. Más caudalmente, es decir, del

NBM y de la SI, surgen el haz basal-cortical lateral y el basal-amigdalario, que inervan la allocorteza e isocorteza lateral y la amígdala, respectivamente (Bear y col., 1998; Butcher, 1995; Détári y col., 1999; Martin, 1998; Semba, 2000; Szymusiak, 1995; Zaborszky y col., 1999) [ver figura 1.4.1.]. No obstante, hay que tener en cuenta que en parte de las vías indicadas, por ejemplo, en las eferencias al hipocampo (Melander y col., 1985), al bulbo olfatorio (Senut y col., 1989; Zaborszky y col., 1986) o a la neocorteza (Gritti y col., 1997; Zaborszky y col., 1999), no sólo existe el componente colinérgico sino que también intervienen otros sistemas de neurotransmisión como el GABAérgico o el péptidérgico.

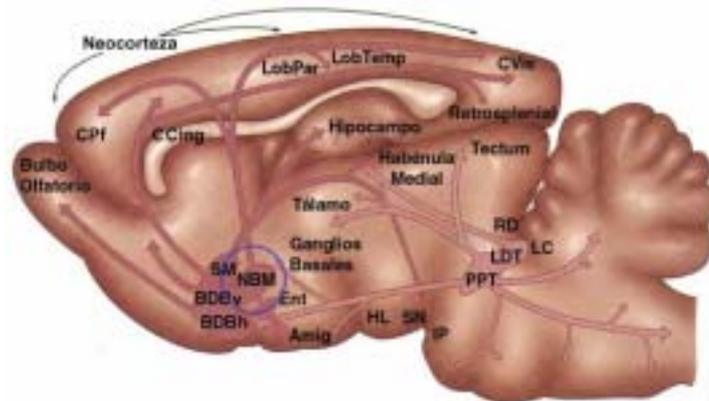


Figura 1.4.1.: Sistema colinérgico central de la rata. [Amíg: amígdala; BDBh: rama horizontal de la banda diagonal de Broca; BDBv: rama vertical de la banda diagonal de Broca; CCing: corteza cingulada; CPf: corteza prefrontal; CVis: corteza visual; Ent: corteza entorrinal; HL: hipotálamo lateral; IP: núcleo interpeduncular; LC: *locus coeruleus*; LobPar: lóbulo parietal; LobTemp: lóbulo temporal; LDT: núcleo laterodorsal mesencefálico; NBM: núcleo basal magnocelular; PPT: núcleo pedunculopontico tegmental mesencefálico; RD: rafe dorsal; SM: *septum* medial; SN: sustancia negra]. Adaptado de Kalat, 2001.

De entre las diferentes estructuras cerebrales que son inervadas por el PB y, en concreto, por el NBM, destaca la **neocorteza**. De hecho, este tipo de proyecciones son las más comúnmente estudiadas y mejor caracterizadas, aspecto no sorprendente si consideramos que el NBM es la mayor fuente de ACh de la corteza cerebral (Détári y col., 1999; Gaykema y col., 1991; Ghashghaie y Barbas, 2001; Mesulam, 2004; Mesulam y col., 1983; Szymusiak, 1995; Zaborszky y col., 1999). A nivel cortical, las terminales de las neuronas colinérgicas forman amplias arborizaciones a lo largo de todas las capas corticales (Woolf, 1991) estableciendo sinapsis con células piramidales y con interneuronas excitadoras e inhibitorias (Semba, 2000). Concretamente, el *input* predominante de las interneuronas GABAérgicas corticales proviene de neuronas colinérgicas (Beaulieu y Somogyi, 1991; Douglas y Martin, 1998). Sin embargo, investigaciones recientes han confirmado la presencia de un componente GABAérgico muy importante en las proyecciones a la neocorteza (Fisher y col., 1988; Gritti y col., 1997; Sarter y Bruno, 2002; Semba, 2000; Szymusiak, 1995; Zaborszky y col., 1999), incluso en un porcentaje similar al de las eferencias colinérgicas (Fort y col., 1998). En

este sentido, se ha podido comprobar que estas neuronas GABAérgicas del NBM establecen sinapsis principalmente con interneuronas GABAérgicas de la neocorteza (Freund y Meskenaite, 1992; Gritti y col., 1997, 2003; Jiménez-Capdeville y col., 1997). Desde el punto de vista funcional, este dato es de especial relevancia ya que sugiere que en las proyecciones corticales del PB las neuronas colinérgicas y las GABAérgicas trabajan de forma sinérgica para aumentar la excitabilidad global y la sensibilidad selectiva de las neuronas corticales. En el caso de las colinérgicas, el efecto excitador sería generado directamente por la interacción de la ACh con receptores postsinápticos fundamentalmente muscarínicos y, en el caso de las GABAérgicas, por inhibir la inhibición ejercida por las interneuronas sobre las células corticales (Détári y col., 1999; Givens y Sarter, 1997; Gritti y col., 1997; Martín, 1998; Rasmusson, 2000; Semba, 2000; Verdier y Dykes, 2001). Por otro lado, son numerosos los trabajos que han puesto de manifiesto que alrededor de una tercera parte del total de neuronas del PB de proyección cortical presentan también otros neurotransmisores como por ejemplo péptidos, siendo la galanina el más abundante (Senut y col., 1989), y glutamato (Hur y col., 2002; Jones y Mühlethaler, 1999; Manns y col., 2001, 2003; Poulin y Semba, 2002; Zaborszky y Duque, 2003), lo que sugiere que estos sistemas también podrían contribuir en la modulación de la actividad cortical (Gritti y col., 1997, 2003).

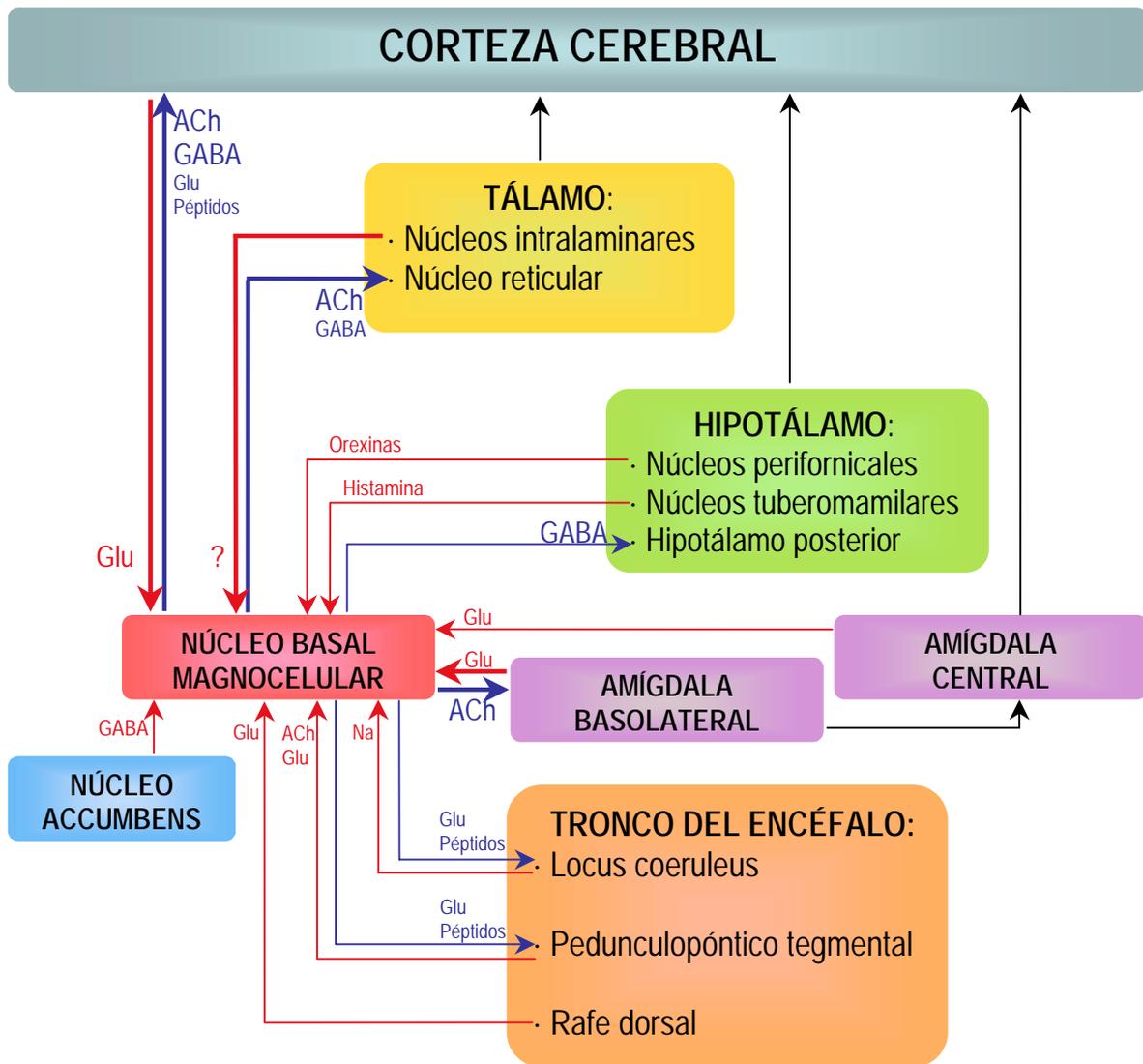
Por otro lado, es importante destacar que las neuronas del PB no solamente pueden regular la actividad de neuronas corticales a través de sus proyecciones directas hacia la neocorteza sino que también lo hacen indirectamente a través de determinados núcleos del **tálamo** (Jones, 2003) como, por ejemplo, el núcleo reticular, el cual forma parte del sistema modulador tálamo-cortical implicado también en la regulación de la excitabilidad de las neuronas corticales (Guillery y col., 1998; Heimer y col., 1997; Kolmac y Mitrofanis, 1999; Steriade, 2004; Steriade y col., 1997; Weese y col., 1999). En este caso, prácticamente todas las regiones del PB inervan este núcleo a través de proyecciones fundamentalmente colinérgicas aunque también GABAérgicas (Asanuma, 1997; Bickford y col., 1994; Kolmac y Mitrofanis, 1999; Levey y col., 1987; Semba, 2000; Steriade y col., 1987). Además, la vía cortical y la talámica no son del todo independientes, ya que existen neuronas del PB que proyectan tanto al núcleo reticular talámico como a la neocorteza (Jourdain y col., 1989; Steriade, 2004). Junto a esta proyección, existe también una inervación básicamente GABAérgica del núcleo mediodorsal del tálamo procedente del GPv y, en menor medida, de la BDBh y de la SI (Semba, 2000; Steriade y col., 1987), de los núcleos anterior y ventromedial del tálamo (Parent y col., 1988; Tomimoto y col., 1987), de núcleos talámicos de la línea media, núcleos intralaminares (como el PF o el centrolateral) y zona incierta (Kolmac y

Mitrofanis, 1999). Además de las vías previamente citadas, a través de las cuales el PB modula la actividad cortical, también existen las proyecciones al **hipotálamo**, fundamentalmente a la región del hipotálamo posterior (Steininger y col., 1999; Szymusiak y col., 1989) y al área hipotalámica preóptica anterior (Bina y col., 1993; Aamandas y col., 1989), en las que el componente GABAérgico es el predominante (Gritti y col., 1994; Semba, 2000).

Otra de las principales regiones diana de las proyecciones procedentes específicamente del NBM es la **ABL** (Carlsen y col., 1985; Mesulam, 1995a; Nagai y col., 1984; Woolf y Butcher, 1982). Este tipo de eferencias son principalmente colinérgicas y, a nivel postsináptico, la mayoría de los botones terminales de estas neuronas establecen contactos sinápticos con neuronas GABAérgicas de la ABL. Estos datos sugieren que, por medio de estas sinapsis, el NBM puede modular indirectamente la actividad de neuronas del núcleo amigdaloides central, principal vía de salida de información del complejo amigdaloides (Semba, 2000).

Llegados a este punto, observamos que la ACh y el GABA están presentes en la mayoría de conexiones eferentes que el PB establece con otras regiones cerebrales tanto corticales como subcorticales. Sin embargo, en el caso de las proyecciones descendentes a diversas estructuras del **tronco del encéfalo** como el área tegmental ventral, el núcleo del tracto solitario, el RD, el LC, el PPT o regiones parabraquiales, intervienen fundamentalmente sistemas de transmisión no colinérgicos (Détári y col., 1999; Givens y Sarter, 1997; Semba, 2000), a excepción de las eferencias al núcleo interpeduncular que son principalmente colinérgicas (Albanese y col., 1985; Woolf y Butcher, 1985). De entre las diferentes estructuras troncoencefálicas citadas, la región del NBM y de la SI envía proyecciones principalmente al PPT (Cornwall y col., 1990; Semba y Fibiger, 1992; Steininger y col., 1992) y al LC (Carnes y col., 1990), a través de las cuales influye en funciones relacionadas con los ciclos de sueño y vigilia.

El siguiente esquema resume las principales conexiones aferentes y eferentes del NBM descritas a lo largo del presente apartado, así como también los principales sistemas de neurotransmisión implicados en éstas. [ACh: acetilcolina; Glu: glutamato].



Tomando globalmente los datos procedentes de las diferentes investigaciones, parece claro que el PB es tanto el origen como la diana de múltiples vías ascendentes y descendentes, neuroquímicamente muy heterogéneas. Como se ha comentado previamente, la mayor parte de los trabajos se han centrado en el estudio de las vías eferentes del PB y de los neurotransmisores implicados en ellas. En este sentido, numerosos autores coinciden en señalar que pueden distinguirse diferentes sistemas de proyección, cada uno de ellos con unas características neuroanatómicas y neuroquímicas propias, lo que hace pensar en la existencia de sistemas funcionales diferentes (Semba, 2000). Así, si nos centramos concretamente en el NBM haríamos referencia a dos sistemas principales: por un lado, el formado por las conexiones con la neocorteza y núcleos talámicos estaría relacionado con la regulación del *arousal* cerebral y la mediación de la eficacia del procesamiento de información a nivel cortical (Golmayo y col., 2003; Semba, 2000). Por otro lado, el constituido por las proyecciones a la ABL,

siendo en este caso un sistema relacionado con la consolidación de la memoria fundamentalmente de información con componentes emocionales y motivacionales (McGaugh y col., 2002; Power y McGaugh, 2002b). Además, es importante destacar que el NBM también recibe aferencias de estas mismas estructuras, lo que sugiere la existencia de circuitos neurales críticos implicados en determinadas funciones cognitivas en las que el NBM desempeñaría un papel central y decisivo como se comentará más detenidamente en los sucesivos apartados de la presente tesis doctoral.

2. RELACIONES FUNCIONALES DEL NÚCLEO BASAL MAGNOCELULAR

El hecho de que el NBM degenera en los enfermos de Alzheimer ha sido una de las razones que ha motivado a numerosos investigadores a evaluar la implicación de esta estructura en diferentes procesos cognitivos y en los mecanismos neurales subyacentes a éstos (Dringenberg, 2000; Weinberger, 2003; Wenk, 1997). En general, el NBM ha sido ampliamente relacionado con funciones como la regulación de la actividad cortical (Détári y col., 1999), la atención (Sarter y col., 2001), el aprendizaje y la memoria (Baxter y Chiba, 1999; Givens y Sarter, 1997) o la inducción de procesos de plasticidad sináptica (Kilgard y Merzenich, 1998; Weinberger, 2003), procesos en los que el sistema colinérgico desempeña un papel esencial (McGaughy y col., 2000; Miranda y col., 2003; Power y col., 2003; Sarter y col., 2003).

En los siguientes apartados se expondrán las diferentes evidencias experimentales que, mediante aproximaciones metodológicas de diversa índole, han demostrado la implicación funcional del sistema colinérgico del NBM, así como también de otros sistemas de neurotransmisión, en los procesos previamente indicados.

2.1. REGULACIÓN DEL AROUSAL CORTICAL

El término *arousal* cortical puede ser definido como un estado de activación general que conduce a una disposición neural óptima para facilitar la transmisión sináptica y la rapidez de respuesta tanto en períodos de vigilia como de sueño paradójico (Steriade, 2000). La regulación de la actividad de las neuronas de la corteza tiene lugar gracias a diferentes sistemas neuromoduladores entre los que destaca el sistema colinérgico del PB, del que forma parte el NBM (Jones, 2003; Sarter y Bruno, 2000; Steriade, 2004; Zaborszky y Duque, 2003). No obstante, a pesar de que la ACh parece ser el principal neurotransmisor implicado, hay que tener en cuenta que el NBM es una estructura bioquímicamente heterogénea, lo que ha llevado a muchos investigadores a estudiar la posible participación de sistemas de neurotransmisión no colinérgicos en la modulación de la actividad cortical (Duque y col., 2000; Gritti y col., 2003; Manns y col., 2000a, b).

En los siguientes apartados se comentarán los principales datos procedentes de investigaciones recientes que ponen de manifiesto el papel central que ocupa el NBM en

la regulación del *arousal* cortical, haciendo especial hincapié en la relación entre la activación de la corteza y los procesos de plasticidad neural, facilitación del procesamiento de la información, así como también en procesos cognitivos como la atención y la formación de la memoria, aspectos funcionales a los que se dedicará una mayor atención en sucesivos apartados.

2.1.1. Principales sistemas de modulación del *arousal* cortical

En el sistema nervioso central existen diversos sistemas de *arousal* con unas características propias que los diferencian entre sí desde un punto de vista anatómico, bioquímico y funcional (Jones, 2003; Marrocco y col., 1994; Robbins, 1997). En la siguiente tabla se muestran sintéticamente las características básicas de los principales sistemas de *arousal* cortical. Es importante destacar que el NBM parece mediar los procesos de regulación cortical a través de diversos sistemas de neurotransmisión.

SISTEMAS DE <i>AROUSAL</i>		REFERENCIAS	NEUROTRANSMISORES	FUNCIONES
HIPOTÁLAMO	Núcleos perifornicales	LC, NBM, Neocorteza, Tálamo, Núcleos tuberomamilares	Orexinas	· Mantenimiento <i>arousal</i> cortical · Regulación metabólica del organismo
	Núcleos tuberomamilares	GB, Neocorteza, NBM, Núcleos talámicos, Tegmento mesopontino	Histamina	· Aprendizaje y memoria · Locomoción · Refuerzo · Regulación <i>arousal</i> cortical · Regulación sueño
	Área Hipotálamo posterior	ME, Neocorteza, TE	Glutamato	· Activación <i>arousal</i> cortical · Actividad motriz
PROSENCÉFALO BASAL	Área septal medial	Hipocampo	Acetilcolina	· Aprendizaje y memoria · Control patrones actividad hipocampal · Procesamiento sensorial
	Núcleo basal magnocelular	ABL, Neocorteza, Tálamo	Acetilcolina (GABA, glutamato, neuropéptidos)	· Activación límbica y cortical · Atención, aprendizaje y memoria · Control de los patrones del EEG de la corteza · Procesamiento sensorial · Regulación sueño/vigilia
TÁLAMO-CORTICAL (núcleos intralaminares, núcleos de la línea media, núcleos mediales, núcleo reticular)		Neocorteza	Glutamato (GABA: núcleo reticular talámico)	· Mantenimiento activación cortical durante vigilia y sueño paradójico · Regulación sueño ondas lentas (núcleo reticular)
TRONCO DEL ENCÉFALO	Área tegmental ventral / Sustancia negra	Amígdala, Corteza cingular anterior y prefrontal, Estriado dorsal y ventral, Hipocampo, <i>Septum</i> , Tubérculo olfatorio	Dopamina	· Atención, aprendizaje y memoria · Refuerzo · Regulación sueño/vigilia

(Continúa)

TRONCO DEL ENCÉFALO	Formación reticular	Hipotálamo, PB, Tálamo	Glutamato (GABA)	<ul style="list-style-type: none"> · Inducción y mantenimiento <i>arousal</i> cortical y actividad sensoriomotriz · Regulación ciclo sueño/vigilia
	<i>Locus coeruleus</i>	Bulbo, Corteza cerebral, Hipocampo, ME, Neocorteza, PB, Protuberancia, Tálamo	Noradrenalina	<ul style="list-style-type: none"> · Atención, memoria · Situaciones de elevada activación (estrés) · Regulación sueño/vigilia
	Núcleos LTD y PPT	Hipotálamo, PB, SN, Tálamo dorsal, TE	Acetilcolina	<ul style="list-style-type: none"> · Activación conductual · Atención, aprendizaje y memoria · Regulación sueño/vigilia
	Núcleos del Rafe	GB, Hipocampo, Hipotálamo, Neocorteza, Tálamo	Serotonina	<ul style="list-style-type: none"> · Activación de mecanismos para evitar interferencias sobre la conducta o actividad neural en curso · Locomoción

Tabla 2.1.1.: Principales sistemas de regulación del *arousal* cortical. [ABL: amígdala basolateral; GB: ganglios basales; EEG: electroencefalograma; LC: *locus coeruleus*; LTD: núcleo laterodorsal mesencefálico; ME: médula espinal; NBM: núcleo basal magnocelular; PB: prosencéfalo basal; PPT: núcleo pedunculopontico tegmental; SN: sustancia negra; TE: tronco del encéfalo]. (Bayer y col., 2002; Cahill y col., 2000; Carlson, 2003; Détári, 2000; Everitt y Robbins, 1997; Haas y Panula, 2003; Henny y col., 2002; Jones, 2003; Manns y col., 2000, 2001; McCormick y Bal, 1997; Robbins, 1997; Satorra-Marin y col., 2001; Sara y col., 1999; Schultz, 2000; Wenk, 1997; Zaborszky y Duque, 2003).

2.1.2. Convergencia de sistemas de modulación en el NBM

Diversos investigadores han sugerido que cada uno de los sistemas de *arousal* presentados en la tabla 2.1.1. podrían estar desempeñando funciones específicas en la activación cortical y en el procesamiento de la información (Jones, 2003; Robbins, 1997; Steriade, 2000). Por otro lado, y de manera complementaria, también se ha propuesto que podrían trabajar conjuntamente para mediar la eficacia de las funciones mencionadas, siendo el sistema colinérgico basal-cortical el punto de convergencia básico de diferentes sistemas neuromoduladores mediante el cual se facilitarían los procesos de *arousal* (Dringenberg y Vanderwolf, 1998; Sarter y Bruno, 2000).

Uno de los procedimientos experimentales más ampliamente utilizado para el estudio de la influencia de los *inputs* del NBM sobre el *arousal* cortical consiste en la EIC de aquellos núcleos cerebrales que proyectan a dicha estructura y el registro de las respuestas neuronales del NBM y/o de la corteza. Así, se ha podido comprobar que las aferencias glutamatérgicas originadas en el PPT ventral y en el RD (Détári, 2000; Détári y col., 1997a, b; Dringenberg y Olmstead, 2003; Rasmusson y col., 1994, 1996; Steriade y col., 1993; Zaborszky y Duque, 2003) o las noradrenérgicas procedentes del LC (Berridge y col., 1996; Berridge y Foote, 1996; Cape y Jones, 1998) generan un aumento en la tasa de respuesta de las neuronas colinérgicas del NBM que provocan, en consecuencia,

tanto un incremento en la liberación de ACh como una activación del EEG cortical. La importancia de los efectos que las vías neurales procedentes del tronco del encéfalo ejercen sobre el sistema colinérgico basal-cortical ha llevado incluso a considerar el NBM como una extensión rostral del sistema reticular activador ascendente (Mesulam, 1995a; Sarter y Bruno, 2000), crítico en el *arousal* cortical y en los mecanismos relacionados con el aprendizaje y la memoria (Détári y col., 1999; Mesulam, 1995c).

En el prosencéfalo también existen aferencias notablemente destacadas, como por ejemplo las originadas en la amígdala, cuya estimulación provoca desincronización del EEG cortical mediada por neuronas del NBM (Dringenberg y Vanderwolf, 1996; Kapp y col., 1994). Del hipotálamo destaca la influencia que los núcleos tuberomamilares (Dringenberg y Kuo, 2003) y perifornicales (Eggerman y col., 2001; Kiyaschenko y col., 2002; Nambu y col., 1999; Peyron y col., 1998) desempeñan sobre la excitabilidad de las neuronas colinérgicas basales y sobre la activación electroencefalográfica de la corteza. Por el contrario, se ha observado que la estimulación del NAc genera una disminución en la tasa de disparo de células colinérgicas del NBM ya que, en este caso, las aferencias parecen ser principalmente de tipo GABAérgico (Mogenson y col., 1983; Sarter y Bruno, 2000).

Los estudios de tipo farmacológico proporcionan datos complementarios a los expuestos previamente en tanto que sugieren que el sistema colinérgico del NBM podría representar un sustrato neural común sobre el que confluyen los efectos de múltiples sistemas de neurotransmisión relacionados con la modulación del *arousal* cortical (Cape y col., 2000; Darnaudery y col., 1999; Eggerman y col., 2001; Strecker y col., 2000). Así, se ha observado que la administración de glutamato (Fadel y col., 2001), de agonistas glutamatérgicos como AMPA o NMDA (Fournier y col., 2004), de histamina (Dringenberg y Kuo, 2003), de noradrenalina (Berridge y col., 1996; Cape y Jones, 1998), de adrenalina (Cape y Jones, 1998) o de neurotensina (Cape y col., 2000), provoca aumentos significativos de ACh cortical y activación electroencefalográfica.

En resumen, las evidencias experimentales expuestas hasta el momento ponen de manifiesto la complejidad de los mecanismos de modulación del *arousal* cortical por parte del NBM, en los que no sólo intervienen diferentes estructuras sino también múltiples sistemas de neurotransmisión. En este sentido, Détári y col. (1999) sugieren que es probable que estos *inputs* estén organizados temporalmente de manera que algunos de ellos, en especial las aferencias troncoencefálicas, sean tónicas, mientras que las prosencefálicas, sean básicamente fásicas. La posible interacción entre los *inputs* tónicos y fásicos podría ser un elemento clave para la comprensión del patrón de

actividad de las neuronas del NBM y, en consecuencia, de la regulación del *arousal* cortical.

2.1.3. Proyecciones corticales del NBM y regulación de los estados de sueño y vigilia

Las líneas de investigación que confirman la contribución de las eferencias corticales del NBM en la modulación del *arousal* son diversas. Entre ellas destacan los estudios que han establecido correlaciones entre la actividad neuronal del NBM y la activación del EEG de la corteza cerebral (Berntson y col., 2002; Détári, 2000; Détári y col., 1999; Everitt y Robbins, 1997; Manns y col., 2000a, b; Mesulam, 1995b, c; Reiner y Fibiger, 1995; Szymusiak, 1995; Szymusiak y col., 2000; Wenk, 1997). Estos experimentos, realizados tanto con animales anestesiados (Détári y col., 1997a; Détári y Vanderwolf, 1987; Dringenberg y Vanderwolf, 1997; Núñez, 1996) como en estado de vigilia (Buzsáki y col., 1988), muestran la presencia de un incremento significativo en la actividad de neuronas del NBM que precede de forma contingente a los períodos de desincronización del EEG cortical (Buzsáki y col., 1988; Détári y col., 1999; Duque y col., 2000; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Metherate y col., 1992; Manns y col., 2000a, b; Nuñez, 1996) [ver figura 2.1.1.].

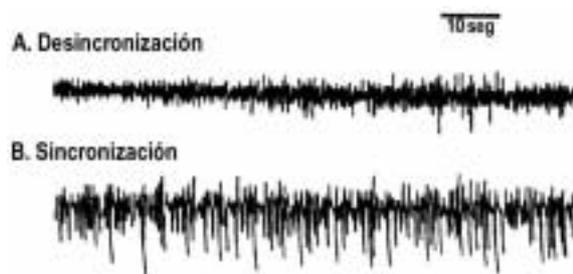


Figura 2.1.1.: Las modificaciones en la actividad eléctrica cerebral, registradas por cambios en el patrón del EEG cortical, correlacionan con diferentes niveles de vigilancia y de sensibilidad neuronal (Cruikshank y Weinberger, 1996; Détári y col., 1999). (A) La desincronización del EEG, presente durante la vigilia y el sueño paradójico, se caracteriza por ondas de alta frecuencia y de baja amplitud. (B) Por el contrario, la disminución de la activación cortical se traduce en un descenso gradual en la frecuencia y en un aumento de la amplitud, lo que se denomina sincronización del EEG cortical. Adaptado de Cruikshank y Weinberger, 2001.

En relación con esta línea de investigación, diversos estudios electrofisiológicos han demostrado que junto a las células del NBM que presentan una tasa de disparo más elevada en presencia de una actividad rápida y desincronizada del EEG cortical (células F), existe un cierto porcentaje de neuronas caracterizadas por presentar la mayor activación durante estados de sincronía (células S) (Détári, 2000; Détári y col., 1999; Lee y col., 2002; Núñez, 1996). El hecho de que en el NBM existan células que se activen en momentos de mayor o menor activación cortical es de especial relevancia, ya que sugiere

que esta estructura ejerce un control activo sobre la regulación de la actividad de la corteza (Détári y col., 1997a, b, 1999).

En los últimos años, la lesión y la EIC del NBM también han constituido importantes fuentes de información acerca del papel de esta estructura en la modulación de la actividad cortical. Por un lado, se ha observado que la administración de diversas neurotoxinas provoca una disminución significativa de la activación cortical tanto durante la vigilia (Buzsáki y col., 1988; Ray y Jackson, 1991, Riekkinen y col., 1990a; Stewart y col., 1984) como durante el sueño paradójico (Benington y col., 1994), mientras que, por otro lado, la estimulación del NBM genera desincronización del EEG cortical (Bakin y Weinberger, 1996; Bjordahl y col., 1998; Edeline y col., 1994a; Golmayo y col., 2003; McLin III y col., 2002a, b, 2003; Metherrate y Ashe, 1991; Metherrate y col., 1992) [ver figura 2.1.2.].

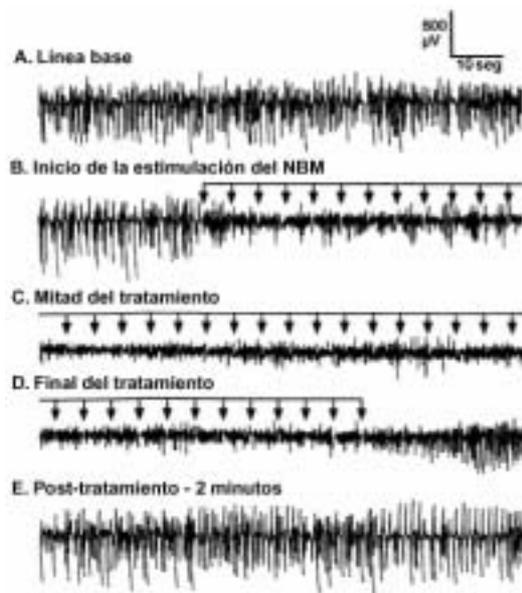


Figura 2.1.2.: Ejemplo de desincronización del EEG en la corteza auditiva primaria durante el tratamiento de EIC del NBM. La desincronización se hace evidente en el momento de la aplicación del tratamiento (B) con un aumento claro de la frecuencia y una disminución de la amplitud de las ondas electroencefalográficas. Este patrón de actividad se mantiene durante el tiempo que dura la EIC (C), volviendo al estado basal minutos después de finalizar el tratamiento (D, E). Adaptado de Cruikshank y Weinberger, 2001.

2.1.4. Papel de la acetilcolina en la modulación del *arousal* cortical

La contribución del NBM en la modulación del *arousal* se realiza fundamentalmente a través de sus proyecciones colinérgicas directas a prácticamente la totalidad de la corteza cerebral (Berntson y col., 2002; Mesulam y col., 1983; Schafer y col., 1998; Woolf, 1991) sobre la que la ACh ejerce, generalmente, una influencia excitadora (Cape y col., 2000; Détári, 2000; Détári y col., 1999; Duque y col., 2000; Linster y Hasselmo, 2001; Manns y col., 2000a; McCormick y Bal, 1997; Reiner y Fibiger, 1995) [ver figura 2.1.3.]. Además, el NBM también parece desempeñar su función

neuromoduladora de forma indirecta a través de las conexiones colinérgicas que establece con el sistema tálamo-cortical (Détári y col., 1999; Jones, 2003; McCormick y Bal, 1997; Semba, 2000; Steriade, 2004).

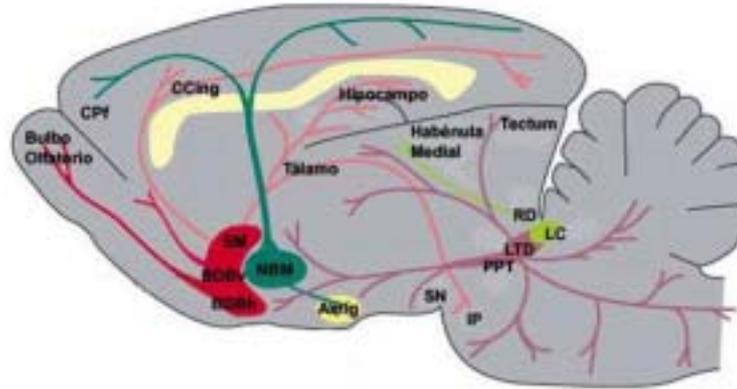


Figura 2.1.3.: Origen y distribución de las vías que constituyen el sistema colinérgico del *arousal* central. [Amígdala; BDBh: rama horizontal de la banda diagonal de Broca; BDBv: rama vertical de la banda diagonal de Broca; CCing: corteza cingulada; CPF: corteza prefrontal; IP: núcleo interpeduncular; LC: *locus coeruleus*; LTD: núcleo laterodorsal mesencefálico; NBM: núcleo basal magnocelular; SM: *septum* medial; PPT: núcleo pedunculopontino tegmental mesencefálico; RD: rafe dorsal; SN: sustancia negra]. Adaptado de Robbins y Everitt, 2003.

Numerosos experimentos han mostrado, mediante técnicas de microdiálisis, incrementos significativos en la liberación de ACh cortical tanto durante la vigilia y el sueño paradójico - períodos de desincronización electroencefalográfica - como durante la presentación de determinados estímulos sensoriales (Détári y col., 1999; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Kurosawa y col., 1992; Metherate y col., 1992; Rasmusson y col., 1992). Asimismo, también se ha demostrado que la activación artificial del NBM mediante EIC (Casamenti y col., 1986; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Kurosawa y col., 1989a, b; Rasmusson y col., 1992) y la administración de agonistas colinérgicos (Szymusiak, 1995) generan un incremento de ACh en la corteza que va acompañado de desincronización del EEG. Por el contrario, la aplicación de antagonistas colinérgicos (Szymusiak y col., 1990) y las lesiones selectivas mediante 192IgG saporina (Berntson y col., 2002; Kapas y col., 1996) provocan descensos significativos de la activación cortical.

En resumen, las diversas evidencias experimentales indican que el sistema colinérgico del NBM desempeña un papel crítico en la activación de la corteza cerebral. Esta función parece ser mediada por la interacción de la ACh con receptores muscarínicos postsinápticos (McCormick, 1992; Sillito, 1993). Datos a favor de esta hipótesis provienen de estudios en los que la administración de antagonistas muscarínicos, como la atropina o la escopolamina, bloquean el efecto excitador de la ACh, mientras que sustancias como la mecamilamina, un antagonista nicotínico, no muestra efectos bloqueadores (Détári y col., 1999; Golmayo y col., 2003; Metherate y

Ashe, 1993; Szymusiak y col., 1990). Además, los efectos de la ACh pueden ser mimetizados por el guanosín monofosfato cíclico, aspecto que es consistente con el hecho de que los receptores muscarínicos son de tipo metabotrópico y se hallan acoplados a sistemas de segundos mensajeros (Détári y col., 1999).

No obstante, como se ha mencionado previamente, también existe una proporción de neuronas que muestran una tasa de disparo elevada ante estados de sincronización del EEG cortical. Aunque se piensa que la mayoría de este tipo de células son interneuronas locales del NBM, probablemente GABAérgicas, que ejercen un efecto inhibitorio a nivel cortical (Détári y col., 1997b), no se descarta que un cierto porcentaje de estas células correspondan a neuronas colinérgicas del NBM que establecen sinapsis con células inhibitorias de la corteza (Aoki y Kabak, 1992; Beaulieu y Somogyi, 1991; Mesulam, 1996) y que, por lo tanto, se activen en períodos de baja actividad cortical.

En conclusión, la idea principal que se desprende de los datos obtenidos en las diferentes líneas de investigación expuestas hasta el momento, es que la ACh liberada por el NBM controla activamente el patrón de excitabilidad de las neuronas corticales, favoreciendo fundamentalmente el aumento de su actividad. Sin embargo, es importante indicar que ciertas inconsistencias observadas en determinados estudios han sugerido la posible implicación de sistemas de neurotransmisión no colinérgicos en los procesos de regulación cortical. Por ejemplo, se ha observado que la lesión selectiva del NBM mediante 192IgG saporina produce una disminución de la actividad cortical pero no una supresión total de ésta (Berntson y col., 2002), o incluso algunos experimentos no han mostrado efecto alguno tras este tipo de lesiones (Wenk y col., 1994).

2.1.5. Implicación de otros sistemas de neurotransmisión en la modulación del *arousal* cortical

Autores como Rasmusson (2000) destacan la importancia de la contribución de sistemas de neurotransmisión no colinérgicos del NBM en la modulación de la actividad cortical, señalando además que una interpretación basada exclusivamente en el papel de la ACh sería excesivamente simplista y, en consecuencia, parcial e inexacta. Un tercio de las proyecciones corticales del NBM está constituido por vías GABAérgicas, glutamatérgicas y neuropeptidérgicas (Gritti y col., 1997, 2003; Henny y col., 2002), sistemas de neurotransmisión que potencialmente podrían participar en la regulación del *arousal* (Jones y Mühlethaler, 1999; Manfredi y col., 1999; Manns y col., 2000b, 2001; Sarter y Bruno, 2002).

Las proyecciones GABAérgicas han sido las más ampliamente estudiadas en los últimos años. En este sentido, se considera que el sistema colinérgico y el GABAérgico trabajan conjuntamente para aumentar la excitabilidad de la corteza, el primero por sus efectos excitadores sobre las neuronas corticales y el segundo, por los contactos sinápticos establecidos con interneuronas GABAérgicas de la corteza (Gritti y col., 1997, 2003; Manns y col., 2000a, b). Así, se ha demostrado que un porcentaje significativo de neuronas GABAérgicas del NBM se activan en períodos de activación del EEG cortical (Duque y col., 1999, 2000; Freund y Gulyás, 1991; Freund y Meskenaite, 1992; Jiménez-Capdeville y col., 1997). Paralelamente, otros estudios han mostrado la existencia de un subgrupo de estas neuronas que establecen sinapsis con células no inhibitorias de la corteza produciendo respuestas hiperpolarizantes postsinápticas (Dykes, 1997; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Manns y col., 2000b). Estos datos sugieren que las proyecciones GABAérgicas, al igual que las colinérgicas, pueden participar en el control activo del patrón electroencefalográfico de la corteza cerebral.

2.1.6. Relación entre *arousal* cortical y procesos cognitivos

La relación existente entre determinados niveles de activación cerebral y la facilitación de procesos cognitivos ha sido confirmada por numerosas investigaciones (Groenewegen y Berendse, 1994; Marroco y col., 1994; Robbins, 1997; Steriade y col., 1993). De hecho, diversos autores sugieren que una de las funciones básicas de la activación cortical es facilitar el procesamiento de la información y, en consecuencia, los procesos de aprendizaje, fundamentalmente a través de mecanismos de plasticidad sináptica que se ven favorecidos por el aumento de la activación de la corteza (Castro-Alamancos y Connors, 1996; Marrocco y col., 1994; Sarter y Bruno, 2000; Steriade y McCarley, 1990). Además, se ha observado que procesos cognitivos como la atención o la memoria pueden ser modulados positivamente cuando la activación de los sistemas de *arousal* coincide con períodos críticos, como la fase de recogida de información o la fase de consolidación de la memoria, respectivamente (Cahill y McGaugh, 1998; Corbetta y Shulman, 2002; Nelson y col., 1996).

La implicación del NBM en diversos procesos cognitivos ha sido vinculada estrechamente a su contribución en la regulación de la excitabilidad de las neuronas de la corteza, ya que de esta manera el NBM parece proporcionar las condiciones neurales adecuadas para que tengan lugar mecanismos de plasticidad sináptica (Cruikshank y Weinberger, 1996; Everitt y Robbins, 1997; Hohmann, 2003; Lucas-Meunier y col., 2003; Rasmusson, 2000). Este hecho ha sido confirmado por numerosos estudios en los que la

activación del NBM mediante EIC, procedimiento que como se ha indicado previamente genera desincronización del EEG (Golmayo y col., 2003; Rasmusson, 2000), induce mecanismos de plasticidad (Weinberger, 2003). Además, se ha demostrado que la desincronización del EEG cortical (Bjordahl y col., 1998; Edeline y col., 1994a) es una condición necesaria para inducir tales procesos neurales.

En conclusión, de las evidencias experimentales expuestas hasta el momento se deduce que el NBM es una de las estructuras básicas del sistema nervioso central en el control de la actividad de la corteza, función que parece ser mediada por diversos sistemas de neurotransmisión entre los que destaca el colinérgico. Además, esta contribución lleva consigo consecuencias funcionalmente importantes, ya que facilita la ocurrencia de determinados acontecimientos fisiológicos vinculados a la modulación de la eficacia de diversos procesos cognitivos (Gill y col., 2000; Sarter y col., 2003; Weinberger, 2003).

2.2. PROCESOS DE ATENCIÓN

Los procesos y capacidades de atención pueden ser concebidos como la expresión cognitiva o conductual de un mecanismo neural que media la eficacia de la adquisición de nueva información en situaciones caracterizadas por la presencia de múltiples y variables estímulos, seleccionando aquella información que es relevante e ignorando, simultáneamente, la irrelevante (Sarter y col., 2003; Wenk, 1997). Uno de los mecanismos neurales más críticos en estos procesos es el sistema colinérgico de proyección cortical del NBM. Los datos experimentales que demuestran esta implicación funcional proceden de diversos experimentos que incluyen principalmente procedimientos de lesión del NBM mediante excitotoxinas o 192IgG saporina, medidas de liberación de ACh cortical a través de microdiálisis *in vivo* y manipulaciones farmacológicas (Sarter y Bruno, 2000; Wenk, 1997).

En el presente apartado se comentarán los principales resultados obtenidos en cada una de estas líneas de investigación, así como también los planteamientos teóricos de mayor relevancia actual que pretenden dilucidar los circuitos y mecanismos neurales críticos implicados en la mediación de los procesos de atención por parte del NBM.

2.2.1. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en los procesos de atención

La mayor parte de los trabajos experimentales de evaluación conductual se han centrado en el estudio de la implicación del sistema colinérgico del NBM en la atención sostenida. Esta función puede ser definida como un estado de vigilancia que predispone al sujeto para la detección eficaz de determinados estímulos de aparición impredecible (Sarter y col., 2001). Los modelos conductuales que generalmente se utilizan son tareas específicamente diseñadas para la evaluación de este tipo de atención (McGaughy y Sarter, 1995). Uno de los paradigmas más comúnmente utilizado es la tarea de tiempo de reacción ante un estímulo en series de cinco elementos (*five-choice serial reaction time task*, 5CSRTT). Este modelo mide la habilidad de los animales para mantener la atención hacia un estímulo luminoso, presentado de forma breve, que aparece aleatoriamente en una de cinco posibles localizaciones, con el objetivo de conseguir un refuerzo (Robbins, 1998, 2002). Otros experimentos se valen de tareas de tipo operante en las cuales los animales deben detectar y discriminar la aparición de estímulos que señalizan la llegada de un refuerzo o la ausencia de éste. Tanto ante un tipo de estímulo como el otro, los sujetos deben apretar una palanca para que su respuesta sea reforzada (Himmelheber y col., 2000, 2001). Ambas tareas cuentan con una serie de ventajas importantes entre las

que cabe destacar la posibilidad de medir múltiples variables para analizar diferentes componentes de la atención sostenida y que son, además, modelos conductuales que permiten modificar las condiciones experimentales con el objetivo de variar las demandas requeridas a los sujetos para la correcta realización de la tarea en cuestión.

La aproximación experimental más utilizada para evaluar la implicación del NBM en procesos de atención es la lesión del NBM. La intervención puede ser realizada con anterioridad al entrenamiento (pre-entrenamiento) o una vez que los sujetos alcanzan un determinado criterio de ejecución en la tarea fijado *a priori* (pre-test). En cualquier caso, la lesión siempre se practica antes de la sesión de prueba en la que se evalúan los efectos sobre la atención [ver tablas 2.2.1. y 2.2.2.]. En referencia a las lesiones excitotóxicas, los diferentes experimentos han utilizado el ácido iboténico, el ácido quisquálico o el AMPA como principales neurotoxinas. En general, todas ellas provocan efectos de deterioro de diversas tareas como se indica en la tabla 2.2.1., sin embargo, algunos autores han puesto de manifiesto que el grado de deterioro de la atención puede depender del tipo de excitotoxina utilizada (Robbins y col., 1989; McGaughy y col., 2000). Por ejemplo, se ha observado que el déficit generado por las lesiones con AMPA es habitualmente más severo que el provocado por el ácido quisquálico o el iboténico, lo cual parece ser debido al mayor decremento colinérgico inducido por la administración de la primera neurotoxina (McGaughy y col., 2000). Este dato supone una evidencia a favor de la implicación del sistema colinérgico del NBM en la atención, que además se ve reafirmado por el hecho de que la administración de nicotina o diversos agentes anticolinesterásicos, como la fisostigmina o el donepezilo, revierten los deterioros generados por las lesiones (Balducci y col., 2003; Muir y col., 1995; Robbins y col., 1997).

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
Robbins y col., 1989	· Ácido iboténico → 30% reducción ChAT · Ácido quisquálico → 50% reducción ChAT	· 5CSRTT	↓ · Menor severidad con ácido iboténico · Mayor severidad con distractor
Muir y col., 1994	· AMPA · 38-70% reducción ChAT	· 5CSRTT	↓
Voytko y col., 1994	· Ácido iboténico · 48-74% reducción ChAT	· Tarea de atención visual · No emparejamiento demorado con la muestra · Tareas de discriminación	↓ en tarea de atención
Muir y col., 1995	· AMPA · 39-70% reducción ChAT · Otras sustancias: fisostigmina y nicotina	· 5CSRTT	↓ · Revertido por fisostigmina y nicotina
Robbins y col., 1997	· AMPA · 40-70% reducción ChAT · Otras sustancias: fisostigmina y nicotina	· 5CSRTT	↓ · Revertido por fisostigmina y nicotina
Burk y Sarter, 2001	· Ácido iboténico · 19-29% reducción AChE	· Tarea operante de atención sostenida	↓
Balducci y col., 2003	· AMPA · 40-60% reducción ChAT · Otras sustancias: donepezilo	· 5CSRTT	↓ · Revertido por donepezilo

Tabla 2.2.1.: Efectos de la lesión del NBM mediante la infusión pre-test de diferentes **excitotoxinas** en la ejecución de tareas para la evaluación de la atención. En la columna correspondiente a "Método" se indica la excitotoxina utilizada para producir la lesión, la reducción colinérgica evaluada a nivel cortical mediante el porcentaje de disminución en los enzimas ChAT (colina acetiltransferasa) o AChE (acetilcolinesterasa), así como la administración de otras sustancias en algunos de los estudios. [5CSRTT: tarea de tiempo de reacción ante un estímulo en series de cinco elementos (*five-choice serial reaction time task*); ↓: deterioro].

Dada la inespecificidad de las excitotoxinas utilizadas, esta aproximación metodológica presenta inconvenientes para poder concluir que estos efectos sean debidos únicamente a la afectación de neuronas colinérgicas de proyección cortical. En los últimos años, esta limitación ha podido ser subsanada en gran medida gracias al desarrollo y caracterización de la inmunotoxina 192IgG saporina (Heckers y col., 1994; Holley y col., 1994; Wiley y col., 1991). El uso de esta inmunotoxina ha permitido demostrar que la integridad del sistema colinérgico cortical del NBM es una condición fundamental para que tengan lugar los procesos implicados en la atención sostenida (McGaughy y col., 2000) existiendo, además, una correlación entre el grado de lesión de las vías colinérgicas y el deterioro observado en la ejecución de los sujetos (McGaughy y col., 2002; Turchi y Sarter, 1997). En la tabla 2.2.2 se resumen algunos de los estudios que han analizado el efecto de la lesión del NBM con 192IgG saporina sobre diversos tipos de tareas.

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
Chiba y col., 1995	· Pre-entrenamiento	· Aprendizaje asociativo (detección de un estímulo predictor de la ocurrencia de otros) · Inhibición latente	↓ en ambas tareas
McGaughy y col., 1996	· Pre-test	· Tarea visual de atención sostenida	↓
Turchi y Sarter, 1997	· 33%-91% reducción AChE · Pre-test	· Tarea operante de atención dividida (estímulos visuales y auditivos)	↓ con modalidad sensorial impredecible
Bushnell y col., 1998	· 62% reducción ChAT · Pre-test	· Tarea de detección de estímulos visuales	↓
Curzon y col., 1999	· 60% reducción ChAT · Pre-entrenamiento	· Tarea operante (<i>go/no-go</i>)	↓
Waite y col., 1999	· 25-45% reducción ChAT · Pre-test	· 5CSRTT · Laberinto acuático · Evitación pasiva · Respuesta de sobresalto · Campo abierto	↓ en 5CSRTT
Burk y Sarter, 2001	· 80% reducción AChE · Pre-test	· Tarea operante de atención sostenida	↓
Himmelheber y col., 2001	· 90% reducción AChE · Pre-test	· Tarea operante de atención sostenida (estándar y con bajas demandas)	↓ en condición estándar
Butt y Bowman, 2002	· Pre-entrenamiento	· Tarea de discriminación visual	↓ ante la situación de atender simultáneamente a varios estímulos
Butt y col., 2002	· Pre-entrenamiento	· Tarea de discriminación (estímulos visuales y auditivos)	↓ ante la situación de atender simultáneamente a varios estímulos
McGaughy y col., 2002	· Pre-test	· 5CSRTT	↓ · Dosis bajas → ↓ severo con alta demanda
Risbrough y col., 2002	· Pre-test	· 5CSRTT	↓↓ en situación de alta demanda
Lehmann y col., 2003	· NBM o SM+BDBv · 33-76% reducción AChE · Pre-test	· 5CSRTT · Laberinto radial	↓ en 5CSRTT con lesión del NBM ↓ en laberinto radial con lesión del SM+BDBv

Tabla 2.2.2.: Efectos conductuales de la lesión del NBM mediante la inmunotoxina **192IgG saporina** administrada directamente en la región del NBM o en otras estructuras, como se especifica en la tabla, a excepción del estudio de Waite y col., 1999 en el que la infusión fue intracerebroventricular. En la columna correspondiente a "Método" se incluye información acerca del porcentaje de reducción colinérgica cortical, evaluada en algunos de los estudios mediante el análisis de los enzimas ChAT (colina acetiltransferasa) o AChE (acetilcolinesterasa), así como también el momento de la lesión (pre-entrenamiento o pre-test). [5CSRTT: tarea de tiempo de reacción ante un estímulo en series de cinco elementos (*five-choice serial reaction time task*); NBM: núcleo basal magnocelular; SM+BDBv: *septum* medial más rama vertical de la banda diagonal de Broca; ↓: deterioro; ↓↓: mayor deterioro].

Tal y como se ha indicado previamente, el grado de deterioro en la ejecución mostrada por los sujetos en diferentes pruebas conductuales puede depender del porcentaje de neuronas colinérgicas dañadas por el procedimiento de lesión utilizado, sin embargo, no es el único factor que puede influir. Varios estudios llevados a cabo tanto con excitotoxinas (Robbins y col., 1989) como con 192IgG saporina (Butt y Bowman, 2002; Butt y col., 2002; McGaughy y col., 2002; Risbrough y col., 2002) han mostrado que el aumento de las demandas de atención de la tarea mediante la manipulación de

determinadas variables como, por ejemplo, la disminución del tiempo de presentación o de la intensidad de los estímulos discriminativos (Risbrough y col., 2002) o el aumento de la frecuencia de aparición de éstos (McGaughy y col., 2002) en la 5CSRTT, la introducción de un estímulo distractor (Robbins y col., 1989) o la necesidad de atender simultáneamente a varios estímulos (Butt y Bowman, 2002; Butt y col., 2002), correlaciona positivamente con la severidad del déficit de atención. Otros estudios también han proporcionado datos complementarios a éstos. Por ejemplo, cuando los recursos atencionales requeridos para la correcta realización de una tarea operante de atención sostenida son mínimos (presentación de una sola palanca en vez de dos), la lesión del NBM con 192IgG saporina no conlleva deterioros (Himmelheber y col., 2001). Asimismo, el déficit inducido por esta inmunotoxina puede ser disminuido con el aumento de la duración de los estímulos discriminativos en la 5CSRTT, ya que conlleva una menor exigencia de recursos atencionales (McGaughy y col., 2002).

La correlación entre el sistema colinérgico cortical del NBM y las demandas de atención de la tarea también se ha estudiado evaluando el nivel de ACh liberada en la corteza mediante microdiálisis *in vivo*. En general, la realización de tareas que evalúan atención sostenida está asociada a un aumento en la liberación de ACh en diversas regiones de la corteza cerebral (Arnold y col., 2002; Dalley y col., 2001; Himmelheber y col., 1997, 2000; McGaughy y col., 2002; Passetti y col., 2000). Además, en la misma línea de los datos previamente comentados, el aumento de las demandas de atención mediante la introducción de un estímulo distractor durante la realización de una tarea atencional operante correlaciona con una mayor liberación colinérgica cortical (Himmelheber y col., 2000). Estudios de tipo neurofisiológico también muestran que el incremento de las demandas en una tarea operante se asocia a cambios en la actividad de la corteza prefrontal mediados por la ACh, no mostrándose ningún aumento en la respuesta de las neuronas corticales cuando la ejecución de la tarea exige mínimos recursos atencionales (Gill y col., 2000; Hutchinson y col., 1996).

Otra de las líneas de investigación de destacada importancia en el estudio de la implicación del NBM en la atención es la constituida por los estudios farmacológicos. A pesar de la diversidad de sustancias utilizadas [ver tabla 2.2.3.], los diferentes autores señalan que los deterioros observados en las tareas conductuales tras la administración de los fármacos son debidos, en gran medida, a cambios en la excitabilidad de las neuronas colinérgicas del NBM. No obstante, no descartan la posible implicación de otros sistemas de neurotransmisión como el GABAérgico (Holley y col., 1995; Muir y col., 1992b; Pang y col., 1993) o el glutamatérgico (Turchi y Sarter, 2001b) en, al menos,

algunos aspectos de la atención. Además, un experimento reciente realizado por Burk y Sarter (2001), en el que se comparaban los efectos producidos por la lesión del NBM con ácido iboténico o con 192IgG saporina en una tarea operante de atención sostenida, mostró que el déficit observado con el ácido iboténico reflejaba un deterioro cognitivo más severo que el inducido por la 192IgG saporina. Tras el análisis histológico del tejido, los autores sugirieron que este mayor deterioro podría ser atribuido en parte a la pérdida de neuronas GABAérgicas del NBM debida a la infusión de la excitotoxina. Este tipo de experimentos, a pesar de no proporcionar conclusiones definitivas al respecto, suponen una aproximación para el estudio del posible papel que pueden ejercer las neuronas no colinérgicas del NBM en los procesos de atención.

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
Muir y col., 1992a	· Hemicolinium (bloqueador de la recaptación de colina) y/o fisostigmina. · i.c.v.	· 5CSRTT	↓ · Revertido por fisostigmina
Muir y col., 1992b	· Muscimol o bicuculina (agonistas receptor GABA _A) → intrabasal · Fisostigmina → sistémica	· 5CSRTT · Tarea de discriminación visual	↓ en ambas tareas por muscimol · Revertido sólo en la 5CSRTT por bicuculina y fisostigmina
Pang y col., 1993	· Muscimol · Intrabasal	· 2CSRTT	↓
Holley y col., 1995	· Clordiazepóxido o β-CCM (agonista y agonista inverso benzodiazepínicos, respectivamente) · Intrabasal	· Tarea operante de atención sostenida	↓
McGaughy y col., 1999	· ABT-418 (agonista nicotínico) · Intrabasal	· Tarea operante de atención sostenida	↓
Turchi y Sarter, 2001b	· NMDA o APV (agonista y antagonista NMDA, respectivamente) · Intrabasal	· Tarea operante de atención sostenida	↓

Tabla 2.2.3.: Efectos de diversas **manipulaciones farmacológicas** pre-test sobre la ejecución de tareas que evalúan atención. En la columna correspondiente a “Método” se especifican las sustancias utilizadas y la vía de administración [i.c.v.: intracerebroventricular; intrabasal: infusión intracerebral directa en el NBM; sistémica]. [2CSRTT / 5CSRTT: tarea de tiempo de reacción ante un estímulo en series de dos / cinco elementos (*two/five-choice serial reaction time task*); ↓: deterioro].

En resumen, de los datos expuestos hasta el momento se pueden deducir al menos dos conclusiones generales importantes: 1) el sistema colinérgico cortical del NBM desempeña una función esencial en la regulación de los procesos involucrados en la atención sostenida, aunque no se puede descartar la participación de otros sistemas de neurotransmisión y, 2) la severidad del déficit parece depender de la interacción entre el nivel de demanda de atención impuesto por la tarea y el porcentaje de lesión de las proyecciones colinérgicas corticales.

2.2.2. Regulación de los procesos de atención por el NBM: Planteamientos teóricos

Los datos obtenidos en los experimentos con animales comentados en el apartado anterior, junto con los procedentes del ámbito de la Neurociencia Cognitiva en humanos (Corbetta y Shulman, 2002), demuestran que el sistema colinérgico del NBM ocupa una posición central y crítica en la regulación de la atención (Everitt y Robbins, 1997; McGaughy y col., 2000; Sarter y col., 2001, 2003). Diversos investigadores han planteado explicaciones teóricas referentes a los componentes que estarían implicados en la red neural que mediaría los procesos de atención sostenida. En este sentido, Sarter, Bruno y Givens (2001) han desarrollado en los últimos años una teoría que pretende aglutinar los principales conceptos y evidencias con el objetivo de ilustrar los posibles circuitos neurales que se activan durante la ejecución de una tarea de atención sostenida. Este planteamiento parte de dos conceptos clave que hacen referencia a los procesos y circuitos neuroanatómicos básicos que podrían activarse para regular la eficacia de la atención. Por un lado, el concepto *bottom-up* hace referencia a aquellos procesos y mecanismos neurales que permiten que los sujetos puedan detectar determinados estímulos por su saliencia y relevancia. Este concepto pretendería explicar las funciones de atención guiadas principalmente por las características del estímulo y su contexto sensorial (Sarter y col., 2001). Por otro lado, el concepto *top-down* hace referencia a mecanismos neurales que optimizan el procesamiento neuronal de los estímulos y las asociaciones, facilitando la discriminación entre las señales significativas y los distractores, y que predisponen al sujeto a detectar las localizaciones concretas de los estímulos (Kastner y Ungerleider, 2000; Sarter y col., 2003). A diferencia de los procesos *bottom-up*, los *top-down* estarían dirigidos por el conocimiento derivado de la experiencia del propio sujeto más que por las características de la propia estimulación sensorial (Corbetta y Shulman, 2002; Sarter y col., 2003).

En relación a los procesos *bottom-up* en la regulación de la atención sostenida, los autores parten de la idea de que las neuronas colinérgicas del NBM que proyectan a la corteza pueden ser activadas por estímulos novedosos, estresantes o emocionalmente significativos (Aston-Jones y col., 1996; Berntson y col., 1998, 2002; Sarter y col., 2001), activación que estaría mediada por vías noradrenérgicas procedentes principalmente del LC (Berntson y col., 1998, 2003). No obstante, se considera que las proyecciones noradrenérgicas más que mediar funciones de atención específicas estarían relacionadas con la regulación de la activación general del NBM, necesaria para la correcta ejecución

proyección cortical del NBM (Sarter y col., 2001). En este sentido, las neuronas colinérgicas del NBM pueden activarse no sólo por aferencias noradrenérgicas procedentes del LC sino también por *inputs* glutamatérgicos originados en la amígdala, fundamentalmente la amígdala central (Holland y Gallagher, 1993), o en la propia corteza prefrontal (Zaborsky y col., 1997). Así, se considera que en el NBM convergen toda una serie de *inputs* que proporcionan información acerca del significado de los estímulos basándose en la experiencia, la motivación y el contexto conductual (Schultz, 2000). Como consecuencia de la activación del NBM se produciría un aumento en la liberación de ACh cortical que facilitaría los procesos *top-down* que tienen lugar en amplias regiones de la corteza, fundamentalmente fronto-parietales (Sarter y col., 2001) [ver figura 2.2.2.].

Este planteamiento teórico destaca la existencia en los procesos *top-down* de un sistema de retroalimentación de regulación de la atención sostenida. Este sistema estaría constituido por el circuito neural corteza prefrontal-NBM-corteza cerebral, el cual representaría un componente crítico de regulación y control de los procesos de atención que, en última instancia, permitirían al sujeto responder adecuadamente a las demandas atencionales de la tarea. Además, también enfatiza la interrelación de los procesos *bottom-up* y *top-down* presentándolos no como constructos dicotómicos sino como componentes que interactúan entre sí para optimizar la eficacia de la atención (Egeth y Yantis, 1997; Sarter y col., 2001).

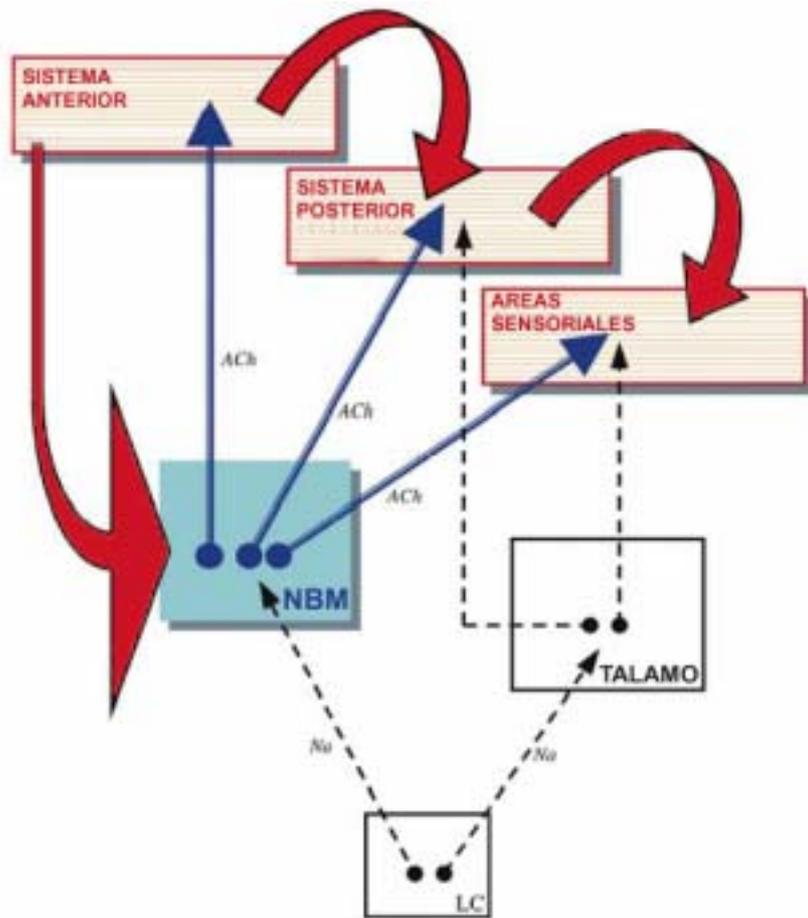


Figura 2.2.2.: Ilustración esquemática de los principales componentes de la red neuronal que media los procesos de atención sostenida. La activación del *sistema anterior*, anatómicamente correspondiente a la corteza prefrontal, influye sobre la activación de regiones posteriores de la corteza (*top-down*). Paralelamente, la activación del sistema colinérgico cortical del NBM por parte de *inputs* procedentes de regiones como el LC (*bottom-up*) o la propia corteza prefrontal es necesaria para mediar y facilitar el procesamiento de la información sensorial a nivel cortical gracias al aumento de la liberación de ACh en amplias regiones de la corteza cerebral. Las proyecciones procedentes del LC no sólo inervan el NBM sino también determinadas regiones corticales a través del tálamo, lo cual contribuye a la facilitación del procesamiento de información relevante gracias al incremento del *arousal* que esta inervación talámica conlleva. [ACh: acetilcolina; LC: *locus coeruleus*; Na: noradrenalina; NBM: núcleo basal magnocelular]. Adaptado de Sarter y col., 2001.

2.3. APRENDIZAJE Y CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

El NBM se ha relacionado ampliamente con los procesos de adquisición y consolidación de la información (Baxter y Chiba, 1999; McGaughy y col., 2000; Parker y col., 2002), funciones cognitivas cuya eficacia se halla indiscutiblemente influida por procesos de atención en los que, como se ha comentado, el NBM también desempeña un papel central (Sarter y col., 2003). No obstante, a pesar de la obvia implicación de la atención en tales procesos, existen numerosas evidencias que demuestran que la alteración del NBM puede influir directamente en la adquisición y/o la retención de diversas tareas conductuales, independientemente de su papel sobre la atención (Bailey y col., 2003; Chudasama y col., 2004; Miranda y col., 2003; Power y col., 2003).

Como se comentará a lo largo del presente apartado, las líneas de investigación que han abordado el estudio de la participación del NBM en la adquisición y la consolidación de la memoria se caracterizan por su heterogeneidad tanto en la metodología utilizada como en los resultados obtenidos. De hecho, a pesar de que en la literatura científica actual prevalezca la idea de que el NBM está implicado en los procesos cognitivos mencionados, la diversidad de datos no proporciona un panorama lo suficientemente esclarecedor como para determinar la función o funciones específicas que esta estructura desempeña [ver apartado 2.5].

2.3.1. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la adquisición de la información

Diversas manipulaciones experimentales aplicadas pre-entrenamiento han demostrado la implicación funcional del NBM en los procesos de adquisición de la información. En las tablas 2.3.1. y 2.3.2. se exponen algunos de estos trabajos clasificados en función del tipo de tratamiento utilizado. En la primera se muestran experimentos que han evaluado exclusivamente los efectos sobre la adquisición de diversas tareas, mientras que en la segunda tabla se exponen los que también han analizado los efectos sobre la consolidación de la memoria, aspecto que será comentado posteriormente.

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
<i>LESIONES ELECTROLÍTICAS</i>			
Lo Conte y col., 1982	· Unilateral	· EV2 · Evitación pasiva	↓
Miyamoto y col., 1985	· Bilateral · Pre o post-adquisición	· EV2 · Evitación pasiva	↓ (pre-adquisición)
Popovic y col., 1996	· Bilateral	· EV2	↓
<i>LESIONES EXCITOTÓXICAS</i>			
Dunnett y col., 1987	· Ácido iboténico, ácido kainico, NMDA o ácido quisquálico · Bilateral	· Evitación pasiva · Laberinto acuático de Morris	↓↓ en evitación pasiva por ácido quisquálico
Nakamura e Ishihara, 1990	· AF64A · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Evitación activa · Laberinto acuático de Morris	↓↓ en laberinto acuático (pre-adquisición)
Riekkinen y col., 1990b	· Ácido iboténico en NBM o SM/BDBv · Bilateral	· Laberinto acuático de Morris	↓
Riekkinen y col., 1991a	· Ácido quisquálico · Bilateral · GVG (inhibidor del GABAtransaminasa)	· Evitación pasiva · Laberinto acuático de Morris	↓ en evitación pasiva agravado por GVG
Steckler y col., 1993	· Ácido iboténico o quisquálico · Bilateral	· Laberinto radial · Tarea operante de automoldeamiento	↓ por iboténico = por quisquálico
Butt y Hodge, 1995	· Ácido iboténico · Bilateral · Escopolamina (antagonista muscarínico)	· Tarea operante de discriminación	↓ = por escopolamina
Waite y Thal, 1996	· Ácido iboténico, quisquálico o AMPA · Bilateral · 192IgG saporina (unilateral e i.c.v.)	· Laberinto acuático de Morris	↓↓ por excitotoxinas
Butt y Hodge, 1997	· Ácido quisquálico · Bilateral	· Tarea operante de asociación simple y compleja de estímulos	↓
Ohara y col., 1997	· Ácido iboténico · Bilateral · SDZ 713 ENA (anticolinesterásico)	· Laberinto acuático de Morris	↓ · Disminución del deterioro por SDZ 713 ENA
Gutiérrez y col., 1999b	· NMDA · Bilateral · 192IgG saporina (bilateral) y/o escopolamina en corteza insular	· ACG	↓ por NMDA y por 192IgG saporina + escopolamina
González y col., 2000	· NMDA · Bilateral · Pre-adquisición o pre-test	· ACG · Laberinto acuático de Morris	↓ (pre-adquisición)
Bailey y Thomas, 2001	· Ácido quisquálico · Bilateral	· Conjunto de tareas de discriminación olfatoria simple e invertida · Tarea de emparejamiento demorado con la muestra	↓ en ambas tareas de discriminación
Nieto-Escámez y col., 2002	· Ácido iboténico · Bilateral · Escopolamina en corteza prefrontal	· Laberinto acuático de Morris	↓ agravado por escopolamina
Santucci y Pérez, 2002	· NMDA · Bilateral · TRH (i.p.)	· Laberinto acuático de Morris	↓
Nieto-Escámez y col., 2004	· Ácido iboténico · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Tarea espacial y no espacial en laberinto acuático de Morris	= (pre-adquisición)

(Continúa)

LESIONES SELECTIVAS			
Berger-Sweeney y col., 1994	· NBM, SM, BDBv o i.c.v. · Bilateral	· Laberinto acuático de Morris	↓↓ con i.c.v.
Baxter y col., 1995, 1996	· NBM/SI o SM/BDBv · Bilateral	· Laberinto acuático de Morris	=
Doran y col., 1996	· NBM, SM o ambos · Bilateral	· Laberinto acuático de Morris · Laberinto radial	=
Waite y Thal, 1996	· i.c.v. · Unilateral · Ácido iboténico, quisculáico o AMPA · Bilateral	· Laberinto acuático de Morris	↓ con dosis altas = con dosis bajas
Doran y col., 1997	· NBM, SM o ambos · Bilateral	· Tareas espaciales en laberinto acuático y radial	↓ en laberinto radial = en laberinto acuático
Fine y col., 1997	· Bilateral	· Tareas de discriminación visual	↓
Ridley y col., 1999	· NBM, BDBv o ambos · Bilateral · MK801 (antagonista glutamatérgico)	· Tareas de discriminación visual y visuoespacial	↓ transitorio en tarea de discriminación visual · Deterioro reinstaurado por MK801
Pizzo y col., 2002	· NBM, SM, ambas o i.c.v. · Bilateral	· Evitación pasiva · Laberinto acuático de Morris · Laberinto en T	↓ en laberinto en T (NBM/SM)
Vale-Martínez y col., 2002a	· NBM/SI o SM/BDBv · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Tarea de transmisión social de preferencia por una comida	↓ (pre-adquisición)
Bailey y col., 2003	· Bilateral	· Conjunto de tareas de discriminación olfatoria simple e invertida	↓↓ en discriminación simple
Conner y col., 2003	· Bilateral	· Tarea de habilidad motora	↓
INACTIVACIÓN REVERSIBLE			
Walsh y col., 1998	· Lidocaína · Bilateral · Pre-adquisición o pre-test	· Laberinto radial	↓
Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999	· TTX · Bilateral · Pre-adquisición o pre-test	· ACG	↓
MANIPULACIONES FARMACOLÓGICAS			
Mayo y Simon, 1992	· β-CCM (agonista inverso benzodiazepinas) o PREG-S (neuroesteroide) · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Laberinto en Y	↑ por β-CCM = por PREG-S (pre-adquisición)
Mayo y col., 1993	· PREG-S o TH-PROG (neuroesteroides) · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Tarea de doble elección (<i>two-trial task</i>)	↓ por TH-PROG = por PREG-S (pre-adquisición)

Tabla 2.3.1.: Efectos de diferentes tratamientos experimentales sobre la **adquisición** de diversas tareas conductuales. Los resultados hacen referencia a los efectos observados por la afectación directa del NBM mediante manipulación pre-adquisición. En la columna de "Método" se especifican los estudios que también han afectado otras estructuras o han aplicado los tratamientos en otros momentos del procedimiento (pre-test o post-adquisición), las manipulaciones experimentales realizadas en cada trabajo, si éstas fueron bilaterales o unilaterales, la vía de administración (en caso de no ser intrabasal), así como otros tratamientos realizados en un mismo estudio. En los trabajos con lesiones selectivas, éstas se realizaron con 192IgG saporina, a excepción de Fine y col., 1997 y Ridley y col., 1999 en los que se administró ME20.4 IgG-saporina dado que los sujetos eran primates. [BDBv: rama vertical de la banda diagonal de Broca; EV2: evitación activa de dos sentidos; GVG: gammavinyI GABA; i.c.v.: administración intracerebroventricular; i.p.: administración intraperitoneal; NBM: núcleo basal magnocelular; PREG-S: neuroesteroide sulfato de pregnenolona; SI: sustancia *innominata*; SM: *septum* medial; TH-PROG: tetrahidroprogesterona; TRH: hormona liberadora de tirotropina; TTX: tetrodotoxina; ↓: deterioro; ↓↓: mayor deterioro; ↑: mejora; =: no efecto].

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
<i>LESIONES ELECTROLÍTICAS</i>			
Popovic y col., 1997	· Bilateral · Fisostigmina o verapamil (antagonista del calcio) pre-ensayos	· EV2	↓ · Disminución del deterioro en adquisición por fisostigmina y en adquisición y memoria por verapamil
<i>LESIONES EXCITOTÓXICAS</i>			
Riekkinen y col., 1992	· Ácido iboténico o ácido quisquálico · Unilateral	· Evitación pasiva · Laberinto acuático de Morris	↓ en evitación pasiva por ambas toxinas
Power y McGaugh, 2002b	· Ácido ftálico · Unilateral · Oxotremorina o fisostigmina (agonistas muscarínicos) en ABL · Unilateral · Post-adquisición	· Evitación pasiva	↓ adquisición ↓↓ retención · Disminución del deterioro por oxotremorina y fisostigmina
<i>LESIONES SELECTIVAS (192IgG saporina)</i>			
Vnek y col., 1996	· i.c.v. · Bilateral	· Tarea de discriminación de objetos	=
Gutiérrez y col., 1999a	· NBM, NMDA en ABL o ambas lesiones · Bilateral	· ACG	= por 192IgG saporina ↓ por ambas lesiones
Perry y col., 2001	· NBM, SM o ambas · Bilateral	· Tareas espaciales en laberinto acuático y radial	↓ (NBM/SM)
Power y col., 2002	· Bilateral · Inyección de NA en ABL · Bilateral · Post-adquisición	· Evitación pasiva	=
<i>MANIPULACIONES FARMACOLÓGICAS</i>			
Orsetti y col., 2003	· RS67333 o RS39604 (agonista parcial y antagonista del receptor 5-HT ₄ , respectivamente) · Bilateral	· Tarea de reconocimiento de lugar	↑ por agonista ↓ por antagonista

Tabla 2.3.2.: Efectos de diferentes tratamientos experimentales tanto sobre la **adquisición** como sobre la **retención** de diversas tareas conductuales. Los resultados hacen referencia a la afectación directa del NBM, a pesar de que en algunos estudios también se afectasen otros núcleos, mediante la aplicación pre-adquisición de las diferentes manipulaciones expuestas. En la columna "Método" se indica las manipulaciones experimentales específicas realizadas en cada trabajo, si éstas fueron bilaterales o unilaterales, la vía de administración (en caso de no ser intrabasal), así como otros tratamientos llevados a cabo en un mismo estudio. [5-HT₄: receptor para la serotonina; ABL: amígdala basolateral; ACG: aversión condicionada al gusto; ASM: área septal medial; EV2: evitación activa de dos sentidos; i.c.v.: administración intracerebroventricular; NA: noradrenalina; NBM: núcleo basal magnocelular; SM: *septum* medial; ↓: deterioro; ↓↓: mayor deterioro; ↑: mejora; =: no efecto].

La aproximación experimental más utilizada para el estudio de la implicación del NBM en los procesos de adquisición de la información es la lesión de esta estructura tanto mediante procedimientos electrolíticos como, sobre todo, químicos. Entre estos últimos destacan, por un lado, las lesiones realizadas con diferentes tipos de excitotoxinas. En general, todas ellas deterioran, en mayor o menor medida, el aprendizaje de diversas tareas conductuales. Sin embargo, algunos estudios han puesto de manifiesto que el grado de afectación puede depender de variables como el tipo de excitotoxina utilizada o el modelo conductual empleado en el experimento. Por ejemplo,

se ha observado que el ácido iboténico provoca deterioros en determinados tipos de tareas espaciales y operantes, mientras que el ácido quisquálico no afecta el aprendizaje de los mismos modelos (Streckler y col., 1993). Además, se ha observado que el ácido quisquálico parece generar mayores deterioros en la evitación pasiva que en otras tareas como el laberinto acuático de Morris (Dunnet y col., 1987; Riekkinen y col., 1991a, 1992).

Por otro lado, los estudios con lesiones selectivas de neuronas colinérgicas del NBM (mediante 192IgG saporina en ratas o ME20.4 IgG-saporina en primates) también han mostrado deterioros significativos en el aprendizaje de diversas tareas. No obstante, la severidad del déficit parece ser en general menor que el provocado por las excitotoxinas (Gutiérrez y col., 1999b; Waite y Thal, 1996). La influencia del tipo de tarea utilizada también se hace evidente en este tipo de estudios dado que la depleción colinérgica, producida por la infusión de 192IgG saporina en el NBM, produce mayores deterioros en tareas espaciales que evalúan memoria de trabajo que memoria de referencia (Baxter y col., 1995; Berger-Sweeney y col., 1994; Dornan y col., 1997; Torres y col., 1994; Wenk y col., 1994).

La importante implicación del sistema colinérgico del NBM en los procesos de adquisición ha sido complementada por datos procedentes tanto de medidas de liberación colinérgica cortical obtenidas mediante microdiálisis *in vivo* como de manipulaciones farmacológicas. Así, se ha constatado que la fase de adquisición de una tarea conductual se asocia con una notable actividad de las neuronas del NBM (Orsetti y col., 1996), lo que se acompaña de incrementos significativos de los niveles de ACh cortical (Miranda y col., 2000; Orsetti y col., 1996). En la corteza cerebral, la ACh liberada por el NBM parece actuar sobre receptores muscarínicos postsinápticos, tal y como indican diversos estudios farmacológicos en los que la administración cortical de antagonistas muscarínicos (escopolamina, atropina o pirenzepina) deterioran la adquisición de tareas como la aversión condicionada al gusto (ACG) (Naor y Dudai, 1996; Ramírez-Lugo y col., 2003). Mediante manipulaciones farmacológicas también se ha demostrado que la infusión en el NBM de determinadas drogas de acción directa sobre el sistema colinérgico puede modular los efectos provocados por lesiones excitotóxicas y electrolíticas, bien agravándolos (Nieto-Escámez y col., 2002) o mitigándolos (Ohara y col., 1997; Popovic y col., 1997).

A pesar de que en la actualidad no se conoce la función específica que la ACh liberada por el NBM ejerce en la regulación de la adquisición de la información, se han planteado diversas hipótesis al respecto. Por un lado, se ha sugerido que la ACh puede participar en la identificación y caracterización de los estímulos relevantes implicados en

la situación de aprendizaje (Bermúdez-Rattoni y col., 2002; Naor y Dudai, 1996). Esta función concuerda con la implicación del NBM en la atención, tal y como se ha comentado en el apartado 2.2. (Sarter y col., 2001, 2003). De hecho, diversos autores (Muir, 1996; Muir y col., 1994; Orsetti y col., 1996) consideran que los deterioros observados en la adquisición, tras las lesiones del NBM, pueden deberse a una afectación de la atención. Sin embargo, otros autores afirman que, a pesar de la innegable influencia que los procesos atencionales ejercen sobre la adquisición de la información, el NBM también puede estar desempeñando una función específica en este proceso (Bailey y col., 2003). Por otro lado, a partir de datos obtenidos en recientes investigaciones, se plantea la hipótesis de que la actividad colinérgica del NBM durante la adquisición puede estar directamente relacionada con la novedad de los estímulos presentes en la situación de aprendizaje (Bermúdez-Rattoni y col., 2002). Más concretamente, se ha observado que la presentación de estímulos nuevos induce un incremento significativo de ACh cortical (Miranda y col., 2000), el cual decrece progresivamente tras sucesivas presentaciones hasta alcanzar los niveles observados ante estímulos ya conocidos (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000).

En definitiva, las diversas hipótesis, planteando alternativas complementarias, coinciden en otorgar al sistema colinérgico un papel central en los mecanismos implicados en el proceso de adquisición de la información. No obstante, no se puede descartar la participación de neuronas no colinérgicas en los procesos de aprendizaje (Baxter y Chiba, 1999; Riekkinen y col., 1990b, 1991a, 1992). En este sentido, sustancias, como el AMPA o el ácido quisquálico, que generan una gran reducción en los marcadores colinérgicos pueden provocar deterioros mínimos en determinadas tareas en comparación con otras sustancias más inespecíficas, como el ácido iboténico (McDonald y Overmier, 1998). Por otro lado, estudios que han comparado los efectos de lesiones del NBM con diversas excitotoxinas y con 192IgG saporina (Waite y Thal, 1996) demuestran que, a pesar de existir similares depleciones colinérgicas, las excitotoxinas producen en general deterioros más severos. Además, la ausencia de déficit que han mostrado diversos trabajos tras lesiones con 192IgG saporina ha sido explicada en parte por la preservación de neuronas no colinérgicas (Baxter y col., 1995, 1996; Dornan y col., 1996; Gutiérrez y col., 1999a; Power y col., 2002; Vnek y col., 1996). Asimismo, diversas manipulaciones farmacológicas han demostrado que sustancias con acción directa sobre el sistema glutamatérgico (Mayo y col., 1993; Mayo y Simon, 1992; Ridley y col., 1999) o GABAérgico (Mayo y col., 1993; Mayo y Simon, 1992; Riekkinen y col., 1991a) pueden también afectar los procesos de adquisición.

2.3.2. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la consolidación de la memoria

En general, la manipulación experimental del NBM puede deteriorar o facilitar la consolidación de la memoria de diversas tareas de aprendizaje, tal y como queda reflejado en la tabla 2.3.3. donde se exponen algunos de estos trabajos clasificados en función del tipo de tratamiento utilizado.

AUTORES	MÉTODO	TAREA CONDUCTUAL	RESULTADOS
<i>LESIONES ELECTROLÍTICAS</i>			
Miyamoto y col., 1985	· Bilateral · Pre o post-adquisición	· EV2 · Evitación pasiva	↓ (post-adquisición)
Ogasawara y col., 1999	· Bilateral · Pre-adquisición · NS-105 (sustancia pro-colinérgica) (pre-adquisición)	· Evitación pasiva	↓ · Disminución del deterioro por NS-105
Vale-Martínez y col., 2002b	· Bilateral · Pre-adquisición · Ácido iboténico (bilateral; pre-adquisición)	· EV2	↓
Sos-Hinojosa y col., 2003	· Bilateral · Pre-adquisición · EIC del PF (unilateral; post-adquisición)	· EV2	↓ · Disminución del deterioro por EIC del PF
<i>LESIONES EXCITOTÓXICAS</i>			
Nakamura e Ishihara, 1990	· AF64A · Bilateral · Pre o post-adquisición	· Evitación activa · Laberinto acuático de Morris	↓↓ en laberinto acuático (post-adquisición)
Riekkinen y col., 1991b	· Ácido quisquálico en NBM, corteza frontal o ambas · Unilateral · Pre-adquisición · Tacrina (anticolinesterásico) (i.p.; pre-adquisición)	· Evitación pasiva	↓ · Disminución del deterioro por tacrina
Abe y col., 1997	· Ácido iboténico en NBM · Bilateral · Pre-adquisición · DSP-4 (neurotoxina noradrenérgica) o THA (i.p.; pre-ensayos)	· Laberinto acuático de Morris	↓ agravado por DSP-4 · Disminución del deterioro por THA
Chen y Shen, 2002	· Ácido iboténico · Bilateral · Pre-adquisición · Histamina (i.c.v.) o histidina, metropina o tacrina (i.p.)	· Evitación pasiva	↓ · Disminución del deterioro por las cuatro sustancias
Vale-Martínez y col., 2002b	· Ácido iboténico · Bilateral · Pre-adquisición · Electrolítica (bilateral; pre-adquisición)	· EV2	↓
Nieto-Escámez y col., 2004	· Ácido iboténico · Bilateral · Pre o post-adquisición · Escopolamina (antagonista muscarínico) en hipocampo	· Tarea espacial y no espacial en laberinto acuático de Morris	= (post-adquisición) ↓ por lesión NBM + escopolamina

(Continúa)

Santucci y Haroutunian, 2004	<ul style="list-style-type: none"> · NMDA · Unilateral · Pre-adquisición <hr/> <ul style="list-style-type: none"> · PCA (liberador 5-HT; i.p.; pre-adquisición) · Fisostigmina (agonista muscarínico; s.c.; post-adquisición) 	<ul style="list-style-type: none"> · Evitación pasiva 	<p style="text-align: center;">↓</p> <ul style="list-style-type: none"> · Deterioro revertido por fisostigmina · Bloqueo del efecto de la fisostigmina por PCA
<i>LESIONES SELECTIVAS (192IgG saporina)</i>			
Leanza y col., 1996	<ul style="list-style-type: none"> · i.c.v. · Bilateral · Post-adquisición <hr/> <ul style="list-style-type: none"> · Arecolina o escopolamina (agonista y antagonista muscarínicos, respectivamente) 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea operante de emparejamiento demorado con la muestra 	<p style="text-align: center;">↓</p> 192IgG saporina + escopolamina > escopolamina > 192IgG saporina = arecolina
Wrenn y col., 1999	<ul style="list-style-type: none"> · i.c.v. · Bilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea espacial en laberinto radial 	↓
Berger-Sweeney y col., 2000	<ul style="list-style-type: none"> · NBM/Sl, SM/BDBv o i.c.v. · Bilateral · Pre-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de transmisión social de preferencia por una comida 	↓
Turchi y Sarter, 2000	<ul style="list-style-type: none"> · Bilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de discriminación olfatoria de emparejamiento y no emparejamiento con la muestra 	<p style="text-align: center;">↓</p> en tarea de no emparejamiento con la muestra
Pizzo y col., 2002	<ul style="list-style-type: none"> · NBM, SM, ambas o i.c.v. · Bilateral · Pre-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Evitación pasiva · Laberinto acuático de Morris · Laberinto en T 	<p style="text-align: center;">↓</p> en evitación pasiva (i.c.v.) y laberinto acuático (i.c.v. y NBM/SM)
Vale-Martínez y col., 2002a	<ul style="list-style-type: none"> · NBM/Sl o SM/BDBv · Bilateral · Pre o post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de transmisión social de preferencia por una comida 	<p style="text-align: center;">↓</p> (post-adquisición)
<i>INACTIVACIÓN REVERSIBLE</i>			
Ambrogi-Lorenzini y col., 1994	<ul style="list-style-type: none"> · TTX · Unilateral o bilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Evitación pasiva 	↓
<i>MANIPULACIONES FARMACOLÓGICAS</i>			
Gerhardt y col., 1992	<ul style="list-style-type: none"> · Sustancia P · Unilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Evitación pasiva 	↑
Mayo y Simon, 1992	<ul style="list-style-type: none"> · β-CCM (agonista inverso benzodiazepínico) o PREG-S (neuroesteroide) · Bilateral · Pre o post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Laberinto en Y 	<p style="text-align: center;">↑</p> por ambas sustancias (post-adquisición)
Mayo y col., 1993	<ul style="list-style-type: none"> · PREG-S o TH-PROG (neuroesteroides) · Bilateral · Pre o post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de doble elección (<i>two-trial task</i>) 	<p style="text-align: center;">↑</p> PREG-S (post-adquisición) = TH-PROG
Hasenöhr y col., 1995	<ul style="list-style-type: none"> · Biglican (neurotrofina) o sustancia P · Unilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de evitación 	↑
Pallarés y col., 1998	<ul style="list-style-type: none"> · PREG-S · Unilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de reconocimiento de lugar 	↑
Mason y col., 1999	<ul style="list-style-type: none"> · NMDA o FG 7142 (agonista inverso parcial benzodiazepínico) · Bilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Laberinto doble en Y 	↑
Privou y col., 1999	<ul style="list-style-type: none"> · Clorfeniramina o ranitidina (antagonista H1 y H2, respectivamente) · Bilateral · Post-adquisición 	<ul style="list-style-type: none"> · Tarea de evitación 	<p style="text-align: center;">↑</p> con clorfeniramina

(Continúa)

Morón y col., 2002	· Bicuculina o muscimol (antagonista y agonista GABAérgico, respectivamente) · Bilateral · Pre-adquisición	· ACG · Evitación pasiva	↓ en evitación pasiva por ambas sustancias
Orsetti y col., 2002	· Tioperamida (antagonista H3) · Bilateral · Pre o post-adquisición, o pre-test	· Tarea de reconocimiento de lugar	↑ (post-adquisición)

Tabla 2.3.3.: Efectos de diferentes tratamientos experimentales sobre la **consolidación de la memoria** de diversas tareas conductuales. Los resultados mostrados en la última columna hacen referencia a los efectos observados por la afectación directa del NBM. En la columna correspondiente a “Método” se indica las manipulaciones experimentales específicas realizadas en cada trabajo, si éstas fueron bilaterales o unilaterales, la vía de administración (en caso de no ser intrabasal), el momento de la aplicación del tratamiento, así como otros tratamientos realizados en un mismo estudio. [5-HT: Serotonina; BDBv: rama vertical de la banda diagonal de Broca; EV2: evitación activa de dos sentidos; H1, H2, H3: receptores histaminérgicos; i.c.v.: administración intracerebroventricular; i.p.: administración intraperitoneal; PF: núcleo parafascicular talámico; PREG-S: neuroesteroide sulfato de pregnenolona; s.c.: administración subcutánea; SI: sustancia *innominata*; SM: *septum* medial; THA: tetrahidroaminoacridina; TH-PROG: tetrahidroprogesterona; TTX: tetradoxina; ↓: deterioro; ↓↓: mayor deterioro; ↑: mejora; =: no efecto].

Desde un punto de vista metodológico, una de las estrategias más apropiadas para estudiar el proceso de consolidación de la memoria consiste en la administración de tratamientos inmediatamente después del aprendizaje, ya que es cuando se forman representaciones permanentes de la información que implican cambios en la estructura neural (McGaugh y col., 1996; White y McDonald, 2002; White y Milner, 1992). Sin embargo, determinadas técnicas experimentales se muestran inviables a la hora de ser aplicadas en el período crítico post-entrenamiento, como por ejemplo las lesiones con inmunotoxinas selectivas (Power y col., 2003). Por este motivo, en muchas ocasiones las intervenciones se realizan pre-entrenamiento, lo que implica una dificultad para discriminar entre los efectos de la lesión sobre la adquisición y los efectos sobre la consolidación de la información (Wenk, 1997). Un ejemplo de ello son los trabajos presentados en la tabla 2.3.2., en los que no solamente se observaron efectos en la adquisición sino también en la consolidación de la memoria tras determinados procedimientos de lesión o tratamientos farmacológicos.

A pesar de estas limitaciones metodológicas, numerosos experimentos muestran deterioros en la retención de diversas tareas de aprendizaje pero no en la adquisición de éstas incluso tras lesiones pre-entrenamiento electrolíticas (Ogasawara y col., 1999; Sos-Hinojosa y col., 2003; Vale-Martínez y col., 2002b), excitotóxicas (Abe y col., 1997; Chen y Shen, 2002; Riekkinen y col., 1991b; Santucci y Haroutunian, 2004; Vale-Martínez y col., 2002b) y selectivas (Berger-Sweeney y col., 2000; Pizzo y col., 2002). Estos datos sugieren que el NBM puede ejercer también un papel específico en la consolidación de la memoria independientemente de su función sobre la adquisición de la información.

En los procesos implicados en la formación de la memoria, el sistema colinérgico del NBM parece ser esencial. De hecho, se ha comprobado que los incrementos en los niveles de ACh cortical observados durante la adquisición de la información persisten durante al menos varios minutos tras la sesión de entrenamiento (Kopf y col., 2001; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Orsetti y col., 1996). Como en el caso de los procesos de adquisición de la información, la función específica que ejerce la ACh en la consolidación de la memoria no es conocida. Sin embargo, su acción sobre receptores muscarínicos postsinápticos (Berman y col., 2000; Ferreira y col., 2002; Gutiérrez y col., 2003; Naor y Dudai, 1996; Ramírez-Lugo y col., 2003) y, sobre todo, la implicación de este neurotransmisor en los procesos de plasticidad neural en la neocorteza y su interacción con receptores NMDA, actualmente parece ser la hipótesis más plausible (McLin III y col., 2003; Miranda y col., 2003; Weinberger, 2003) [ver apartado 2.6.].

Además, recientes investigaciones han puesto de manifiesto que el NBM parece regular los procesos mnemónicos no sólo a través de las proyecciones colinérgicas a la corteza sino también a la ABL (Power y col., 2003). Numerosos estudios han aportado evidencias experimentales acerca del papel desempeñado por esta estructura en la modulación de la consolidación de la memoria en general (Barros y col., 2002; McIntyre y col., 2003; Paré, 2003; Power y McGaugh 2002a; Vazdarjanova y McGaugh, 1999) y, más concretamente, de diversos tipos aprendizajes asociativos (Davis, 2000; Everitt y col., 2000; Gallagher, 2000) o de situaciones de activación emocional, como por ejemplo, condicionamientos aversivos (Davis, 2000; Le Doux, 2000; McGaugh, 2002; McGaugh y col., 1992, 2002; McIntyre y col., 2003). Así, la lesión del NBM con ácido ftálico, que lesiona predominantemente las proyecciones colinérgicas a la ABL, deteriora la retención de una tarea de evitación pasiva (Power y McGaugh, 2002b). Otro estudio reciente también ha mostrado que las lesiones colinérgicas selectivas del NBM pre-entrenamiento bloquean la facilitación de la memoria esperada por la administración de noradrenalina en la ABL en la misma tarea (Power y col., 2002). Estos resultados indican que las proyecciones colinérgicas corticales del NBM son necesarias para la modulación de los procesos de consolidación de la memoria por parte de la ABL. En definitiva, se considera que el NBM puede ejercer sus efectos en relación a los procesos de consolidación de la memoria a través de cualquiera de las dos vías colinérgicas: basal-cortical y basal-amigdalal (Gutiérrez y col., 1999a). Los principales mecanismos planteados por los que NBM y ABL podrían modular conjuntamente los procesos mnemónicos son los que se muestran en la figura 2.3.1.

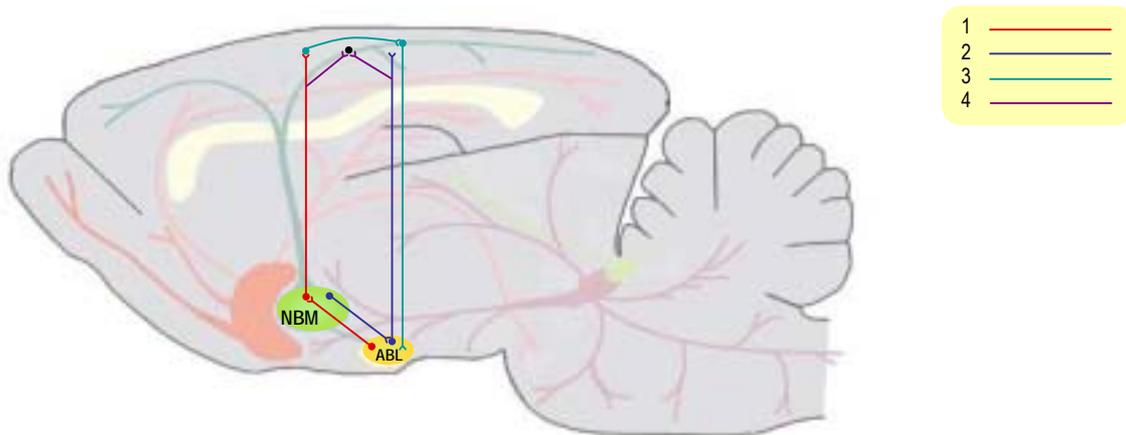


Figura 2.3.1.: Vías por las que NBM y ABL pueden modular conjuntamente la consolidación de la memoria. (1) Regulación de las proyecciones colinérgicas basal-corticales por medio de las proyecciones glutamatérgicas de la ABL al NBM. (2) Regulación de las eferencias corticales de la ABL a través de las proyecciones que recibe esta estructura del NBM. (3) Las aferencias que la ABL recibe directamente de la corteza pueden verse influidas por el nivel de activación colinérgica que la corteza recibe del NBM. (4) En la corteza cerebral, modulación de la consolidación de la memoria por la coincidencia de *inputs* procedentes de la ABL y del NBM. Los diversos autores consideran como más plausible la interacción o combinación de los diferentes circuitos en la regulación de la consolidación de la memoria (Power y col., 2002, 2003).

Los estudios de tipo farmacológico también indican la implicación del sistema colinérgico del NBM en la consolidación de la memoria. Por ejemplo, se ha demostrado que la administración de un inhibidor del enzima de degradación acetilcolinesterasa (Riekkinen y col., 1991b) o de un agonista muscarínico (Santucci y Haroutunian, 2004), disminuyen el deterioro ocasionado por lesiones excitotóxicas, mientras que la infusión de un antagonista muscarínico como la escopolamina puede agravar el déficit producido por la lesión con 192IgG saporina (Leanza y col., 1996). Sin embargo, las manipulaciones neurofarmacológicas han constituido sobre todo una aproximación experimental básica para el estudio de la participación de sistemas de neurotransmisión no colinérgicos en los procesos mnemónicos, como por ejemplo el GABAérgico (Mason y col., 1999; Mayo y col., 1993; Mayo y Simon, 1992; Morón y col., 2002; Pallarés y col., 1998), el noradrenérgico (Abe y col., 1997), el glutamatérgico (Mason y col., 1999; Mayo y col., 1993; Mayo y Simon, 1992; Pallarés y col., 1998), el histaminérgico (Chen y Shen, 2002; Orsetti y col., 2002; Privou y col., 1999) o el serotoninérgico (Santucci y Haroutunian, 2004). Numerosos autores consideran que la acción de los neurotransmisores no colinérgicos en relación a la consolidación de la memoria puede ser debida a su interacción con el sistema colinérgico del NBM (Chen y Shen, 2002; Orsetti y col., 2002; Pallarés y col., 1998; Santucci y Haroutunian, 2004), sin embargo, otros investigadores abogan por la existencia de acciones relativamente independientes (Morón y col., 2002). A pesar de estas aproximaciones, el estudio de la función de las neuronas no colinérgicas del NBM en los procesos cognitivos ha sido en general un ámbito poco explorado (Baxter y Chiba, 1999).

2.4. RECUPERACIÓN DE LA INFORMACIÓN

A diferencia de los procesos cognitivos de atención, adquisición y consolidación de la memoria, la actividad del sistema colinérgico del NBM en relación a los mecanismos de recuperación de la información es mucho menos conocida (Gutiérrez y col., 1997). El número de trabajos que han abordado esta cuestión es sustancialmente menor y, a pesar de que las aproximaciones metodológicas han sido variadas, incluyendo lesiones permanentes excitotóxicas, procedimientos de inactivación reversible, técnicas de microdiálisis *in vivo* y manipulaciones farmacológicas, los modelos conductuales utilizados se limitan básicamente a tareas de tipo aversivo (González y col., 2000; Gutiérrez y col., 1997; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Naor y Dudai, 1996; Ramírez-Lugo y col., 2003) y espacial (González y col., 2000; Orsetti y col., 2002; Walsh y col., 1998), exceptuando algún trabajo que utiliza tareas operantes apetitivas (Orsetti y col., 1996). Las diversas manipulaciones experimentales de estos trabajos se realizan días después de la sesión de adquisición de la tarea o inmediatamente antes de la sesión de prueba que evalúa la recuperación, es decir, una vez que los procesos involucrados en la consolidación de la memoria han tenido lugar. Siguiendo este procedimiento, diferentes estudios han coincidido en señalar que el NBM, y fundamentalmente sus neuronas colinérgicas, parece no estar implicado de forma crítica en la recuperación de la información de tareas previamente adquiridas.

Los estudios de lesión han mostrado que la afectación bilateral del NBM con NMDA no genera déficit alguno en la recuperación de tareas como la ACG o el laberinto acuático de Morris (González y col., 2000). De forma similar, la inactivación bilateral reversible del NBM, ya sea con tetradotóxina o con lidocaína, tampoco provoca deterioros en la ACG (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999) o en el laberinto radial (Walsh y col., 1998), respectivamente. Estos resultados se complementan con otros procedentes de trabajos centrados en el estudio del sistema colinérgico. La microdiálisis *in vivo* permite obtener medidas directas de la actividad colinérgica en momentos diferentes de la ejecución de una tarea conductual. Así, se ha observado que el aumento de la liberación de ACh en la corteza tiene lugar durante la fase de adquisición de tareas como la ACG (Miranda y col., 2000) o una tarea operante de tipo apetitivo (Orsetti y col., 1996), pero no durante la recuperación de la información una vez que las tareas han sido plenamente adquiridas. Por otro lado, investigaciones farmacológicas demuestran que la infusión de antagonistas muscarínicos en regiones corticales inervadas por el NBM no afecta a los mecanismos de recuperación de la información en modelos como la ACG (Naor y Dudai, 1996; Ramírez-Lugo y col., 2003). La administración intracortical de otras sustancias que

influyen directamente en el funcionamiento del sistema colinérgico del NBM, como anticuerpos para el factor de crecimiento nervioso, provoca efectos en el mismo sentido tanto en la ACG como en la evitación pasiva (Gutiérrez y col., 1997). Un estudio reciente (Orsetti y col., 2002) también ha demostrado que la tioperamida -antagonista del receptor H3 de la histamina- administrada en el NBM tampoco provoca efectos sobre la recuperación de la información en una tarea de reconocimiento espacial.

En resumen, el NBM colinérgico parece no participar en los procesos de recuperación de la información ya aprendida, conclusión que además se ve ratificada por la notable consistencia existente en los resultados obtenidos en manipulaciones experimentales de diversa índole. Esta ausencia de efectos ha sido interpretada partiendo del hecho de que el NBM y el sistema colinérgico están implicados en aspectos como la atención o la señalización de la información relevante y/o novedosa [ver apartado 2.3.1.], la importancia de los cuales se halla minimizada en fases posteriores del aprendizaje como la recuperación de la información (Bermúdez-Rattoni y col., 2002; Naor y Dudai, 1996; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000; Orsetti y col., 1996). No obstante, es importante destacar que a pesar de que la mayoría de los estudios comentados se han centrado en la evaluación del sistema colinérgico del NBM, en la literatura científica no existen trabajos de lesión selectiva de sus neuronas colinérgicas. Este tipo de manipulación experimental podría proporcionar datos críticos para confirmar que la integridad del sistema colinérgico no es necesaria en los procesos implicados en la recuperación de la información.

2.5. PAPEL GENERAL DEL NBM EN LOS PROCESOS COGNITIVOS

En los últimos años, la implicación específica del sistema colinérgico del NBM en los procesos cognitivos ha sido objeto de intenso debate. La atención ha sido una de las funciones más ampliamente estudiada considerándose incluso que el resto de procesos cognitivos se hallan supeditados a ésta. Autores como Sarter y col. (2001, 2003) postulan que, desde un punto de vista conceptual, la disociación entre atención, aprendizaje y memoria es en gran medida improbable, ya que la eficacia de las diversas fases del proceso general de aprendizaje depende en gran parte del óptimo funcionamiento de las capacidades atencionales. No obstante, tal y como se ha comentado previamente [ver apartado 2.3.], el sistema colinérgico del NBM también puede desempeñar un papel específico en procesos como la adquisición y la consolidación de la memoria (Bailey y col., 2003; Bailey y Thomas, 2001; Berger-Sweeney y col., 2000; Power y col., 2003).

En la actualidad, la posición neurocientífica predominante parte del supuesto de que la participación del sistema colinérgico en la atención, la adquisición y la memoria no son hipótesis mutuamente excluyentes (Chudasama y col., 2004; McLin III y col., 2003; Power y col., 2003; Wenk, 1997). De hecho, parece improbable que un neurotransmisor con una distribución tan amplia en el sistema nervioso central como la ACh esté implicado en una única función cognitiva (Gold, 2003; Sarter y Bruno, 1997). En general, se considera que la ACh liberada por el NBM modula la eficacia del procesamiento de la información sensorial y de la asociación entre estímulos, propiciando que la información sea codificada en los circuitos neurales apropiados y que, en última instancia, pueda ser almacenada (Baxter y Chiba, 1999; Bermúdez-Rattoni y col., 2002; Everitt y Robbins, 1997; Miranda y col., 2003; Naor y Dudai, 1996; Pepeu y Giovannini, 2004; Ranganath y Rainer, 2003; Sarter y Bruno, 1997). Algunos autores afirman que esta eficacia consiste fundamentalmente en mediar la habilidad de los sujetos para detectar y seleccionar los estímulos relevantes de la situación de aprendizaje discriminando entre señales significativas y distractores (Sarter y Bruno, 1997; Sarter y col., 2003), mientras otros investigadores enfatizan la característica de la novedad de los estímulos (Miranda y col., 2003). En definitiva, la ACh parece proporcionar un marcador temporal para señalar los eventos conductualmente relevantes y fortalecer las conexiones entre las neuronas implicadas en la representación de tales eventos, es decir, puede estar indicando “qué” aprender (Kilgard, 2003).

Por otro lado, se ha observado que la regulación de constructos tan complejos como la atención, el aprendizaje y la memoria puede depender de la interacción de varios

factores, como por ejemplo, las características de la propia tarea conductual o la implicación de otros sistemas de neurotransmisión o de otras estructuras cerebrales. De hecho, tanto la variabilidad de resultados existente en la literatura científica en relación al NBM como la ausencia de efectos observada en algunos de los trabajos han sido explicadas, en gran parte, por la influencia de los factores mencionados.

La complejidad y las demandas cognitivas de los modelos conductuales son variables cuya influencia en el grado de severidad de los efectos de la lesión del NBM ha sido demostrada en experimentos que han abordado el papel de este núcleo tanto en los procesos de atención (Sarter y col., 2003) como de adquisición y de consolidación de la memoria (Turchi y Sarter, 2000; Vale-Martínez y col., 2002a; Wrenn y col., 1999). Estas variables pueden explicar la ausencia de déficit conductual observada en algunos trabajos de lesión del NBM, tanto con excitotoxinas (Voytko, 1996; Voytko y col., 1994) como con 192IgG saporina (Baxter y col., 1995, 1996; De Rosa y col., 2001; Dornan y col., 1996; Gutiérrez y col., 1999a; Power y col., 2002; Torres y col., 1994; Waite y col., 1999; Wenk y col., 1994). Así, se ha llegado a sugerir que la integridad del sistema colinérgico basal-cortical sería necesaria fundamentalmente en tareas complejas o que requieren una exigencia significativa de los recursos cognitivos del sujeto (Everitt y Robbins, 1997; Sarter y col., 2003; Wrenn y col., 1999). No obstante, este planteamiento proporciona una explicación parcial en tanto que no tiene en cuenta la influencia de otros elementos como el grado de lesión del NBM o las poblaciones neuronales afectadas (McDonald y Overmier, 1998; Pizzo y col., 2002; Wrenn y col., 1999). A pesar de estas inconsistencias, es un planteamiento que aporta la innegable ventaja de haber puesto de manifiesto la importancia de definir de forma explícita el nivel de demanda requerido por la tarea, y de utilizar modelos que proporcionen las condiciones conductuales óptimas que permitan detectar los deterioros inducidos por lesiones del NBM (Berger-Sweeney y col., 2000; Bushnell, 1998; Everitt y Robbins, 1997; Sarter y col., 2003; Wrenn y col., 1999).

La diversidad de métodos utilizados para lesionar el NBM también supone una importante fuente de información acerca de los factores que pueden regular la función del NBM en los diferentes procesos cognitivos. La utilización de la 192IgG saporina ha puesto de manifiesto la importancia que el grado de afectación colinérgica del NBM puede tener en la interpretación de los resultados obtenidos (Berger-Sweeney y col., 1994; Leanza y col., 1996; Pizzo y col., 2002; Wrenn y col., 1999). De hecho, se ha comprobado que el funcionamiento normal de un cierto porcentaje de neuronas colinérgicas, intactas tras la lesión con la inmunotoxina, puede ser suficiente para la

correcta realización de determinadas tareas (Gutiérrez y col., 1999b; Leanza y col., 1996). Uno de los aspectos que ha recibido mayor atención es la preservación de las proyecciones colinérgicas del NBM a la ABL tras la lesión con 192IgG saporina (Heckers y col., 1994), hecho que explicaría la ausencia de efectos hallada en determinados estudios (Bailey y col., 2003; Power y McGaugh 2002a, b; Power y col., 2002). Por otro lado, el uso de diferentes tipos de excitotoxinas también ha permitido evidenciar la influencia de otros factores, concretamente, la participación de neuronas no colinérgicas del NBM en los procesos cognitivos (Power y col., 2002; Waite y Thal, 1996; Wenk, 1997). Este factor explicaría en parte el fracaso de algunos trabajos a la hora de reproducir, mediante la lesión con 192IgG saporina, los deterioros observados con determinadas excitotoxinas a pesar de generar niveles similares de depleción colinérgica cortical (Bailey y col., 2003; Bailey y Thomas, 2001; Waite y Thal, 1996). El papel de las neuronas no colinérgicas del NBM en los procesos cognitivos es actualmente incuestionable, aunque su contribución específica permanece aún sin determinar (Gold, 2003). Se considera que el sistema colinérgico actúa sinérgicamente con otros sistemas de neurotransmisión presentes en el NBM en la modulación de los procesos cognitivos. Sin embargo, no se excluye la posibilidad de que ambos tipos de proyecciones, colinérgicas y no colinérgicas, puedan estar procesando propiedades diferentes de la experiencia (Baxter y Chiba, 1999; Gold, 2003).

En conclusión, a pesar de que aún existen numerosas cuestiones sin resolver, existe una remarcable consistencia entre diversos grupos de investigación y entre diferentes aproximaciones experimentales respecto a la implicación del NBM en estadios iniciales del proceso de aprendizaje. Este núcleo parece intervenir en fases en las que tienen lugar procesos de adquisición, codificación y consolidación de la información (Miranda y col., 2003; Orsetti y col., 1996; Vale-Martínez y col., 2002a; Weinberger, 2003), sin ser necesario en fases posteriores como la recuperación de la información ya adquirida (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000; Ramírez-Lugo y col., 2003). Además, teniendo en cuenta que la participación del NBM en los procesos cognitivos parece estar regulada por factores de diversa naturaleza, se ha sugerido que cada situación de aprendizaje puede requerir de la combinación dinámica o de un ajuste en la implicación de diversos sistemas neurales tanto anatómicos como neuroquímicos (Everitt y Robbins, 1997; Gold, 2003). En consecuencia, la detección e identificación de estos factores en futuras investigaciones, mediante el diseño de modelos animales sensibles a éstos, supondrá un elemento crucial para determinar con mayor precisión las funciones cognitivas en las que el NBM está involucrado.

2.6. PROCESOS DE PLASTICIDAD SINÁPTICA

La participación del NBM en los procesos de aprendizaje y de consolidación de la memoria está estrechamente vinculada a su papel en ciertas formas de plasticidad sináptica (Rasmusson, 2000; Weinberger, 2003). La implicación del NBM en mecanismos de plasticidad cortical ha sido evidenciada principalmente por estudios en los que se utiliza como aproximación experimental la técnica de EIC.

En el presente apartado se comentarán los principales resultados obtenidos en dichos estudios así como también las diversas variables que influyen en la plasticidad inducida por la EIC del NBM, las cuales ponen de manifiesto que las condiciones necesarias para generar plasticidad mediante la activación del NBM son comunes a las necesarias en un proceso natural de aprendizaje, o que la desincronización del EEG cortical parece ser un elemento esencial en la inducción de la plasticidad neural. Además, también se hará referencia a los posibles mecanismos por los que la activación del NBM induce procesos de plasticidad, a pesar de que los mecanismos concretos a través de los cuales esto ocurre son, en gran parte, desconocidos en la actualidad.

2.6.1. Estimulación eléctrica del NBM, activación cortical y liberación colinérgica

Diversos trabajos han mostrado que la activación del NBM genera desincronización del EEG cortical (Bakin y Weinberger, 1996; Bjordahl y col., 1998; Edeline y col., 1994a; Golmayo y col., 2003; McLin III y col., 2002a, b, 2003; Metherate y Ashe, 1991; Metherate y col., 1992), la cual parece estar mediada por la ACh ya que la administración de atropina, antagonista muscarínico, reduce considerablemente la desincronización inducida por la EIC (Bakin y Weinberger, 1996; Golmayo y col., 2003; Metherate y Ashe, 1991). La implicación del sistema colinérgico ha sido asimismo constatada a través de estudios con microdiálisis que muestran un aumento de los niveles corticales de este neurotransmisor tras la activación del NBM (Casamenti y col., 1986; Jiménez-Capdeville y col., 1997; Kurosawa y col., 1989a, b; Rasmusson y col., 1992). El incremento en el flujo sanguíneo cerebral también se ha medido para evaluar indirectamente la relación entre activación del NBM y liberación de ACh cortical, ya que el sistema colinérgico presenta propiedades vasodilatadoras a través de su acción sobre los receptores tanto nicotínicos como muscarínicos del parénquima de la corteza cerebral (Adachi y col., 1990; Biesold y col., 1989; Kurosawa y col., 1989b; Sato y col., 2002; Vaucher y col., 1995).

La estrecha relación existente entre el sistema colinérgico del NBM, la activación cortical y los procesos de plasticidad neuronal es un hecho bien establecido en la actualidad (Rasmusson, 2000). Así, la EIC del NBM parece proporcionar unas condiciones neurales óptimas -aumento de la liberación de ACh y desincronización del EEG- para que tengan lugar ciertos procesos de plasticidad neuronal a nivel de la corteza cerebral. En consecuencia, como han coincidido en destacar diversos investigadores (Bakin y Weinberger, 1996; McLin III y col., 2003; Weinberger, 2003), estos datos evidencian que la técnica de EIC constituye una aproximación experimental idónea para el estudio de posibles sustratos neurales de determinadas formas de plasticidad sináptica, que podrían subyacer a procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria.

2.6.2. Evidencias experimentales de la implicación del NBM en la plasticidad cortical

La implicación del NBM en procesos de plasticidad ha sido confirmada por numerosas evidencias experimentales proporcionadas por estudios que han utilizado paradigmas de aprendizaje de tipo asociativo, emparejando la EIC del NBM con la presentación de un estímulo sensorial (Rasmusson, 2000; Weinberger, 2003). Estos trabajos muestran que la activación de esta estructura induce procesos de plasticidad neuronal en la corteza que presentan propiedades similares a los cambios plásticos que se derivan de situaciones naturales de aprendizaje como se describe a continuación.

2.6.2.1. Plasticidad cortical inducida por aprendizaje

Las investigaciones que han evaluado la influencia que el aprendizaje ejerce en la inducción y el mantenimiento de la plasticidad neuronal en el cerebro adulto se han basado generalmente en paradigmas de condicionamiento (Galván y Weinberger, 2002; Weinberger, 1998). Así, en un condicionamiento clásico se observa un aumento en los potenciales evocados de las neuronas corticales ante el estímulo condicionado (EC) una vez que los sujetos aprenden que dicho estímulo predice la aparición inmediata de un estímulo incondicionado (EI), como una comida o un ligero *shock* eléctrico, tanto en animales (Bakin y col, 1996; Bakin y Weinberger, 1990; Galván y Weinberger, 2002; Kiskey y Gerstein, 2001; Maho y col., 1995; Weinberger y col., 1993) como en humanos (Molchan y col., 1994; Morris y col., 1998; Schreurs y col., 1997). Los cambios en los mecanismos intracelulares, en la eficacia sináptica y en la conectividad entre neuronas propios de la plasticidad (Kilgard y col., 2002) no sólo se manifiestan en aumentos de la respuesta celular sino también en cambios en la organización de la corteza. En este sentido, varios estudios de condicionamiento clásico, en los que se utilizaba como EC un

tono de una determinada frecuencia, mostraron que este aprendizaje generaba un aumento del área del mapa tonotópico de la corteza auditiva primaria que respondía específicamente al EC utilizado, disminuyendo paralelamente la representación cortical de otros tonos de diferentes frecuencias acústicas (Recanzone y col., 1993; Weinberger y col., 1990).

Diversas evidencias experimentales señalan al sistema colinérgico como mediador de los procesos de plasticidad descritos. Por ejemplo, se ha observado que la administración directa de ACh en la corteza somatosensorial (Delacour y col., 1990; Methérate y col., 1987) o en la auditiva primaria (Ji y col., 2001; Methérate y col., 1990; Weinberger, 1995, 1998) genera aumentos en las respuestas de las neuronas de dichas cortezas o en el área del campo receptor cortical (Delacour y col., 1990) ante el EC utilizado en cada estudio. Estos efectos son bloqueados por la administración de atropina, lo que indica que la ACh ejerce sus funciones a través de la interacción con receptores muscarínicos.

Gracias a los experimentos enmarcados en esta línea de investigación se han podido determinar las principales propiedades fisiológicas de la plasticidad neuronal inducida por paradigmas de aprendizaje asociativo observada en los campos receptores de la corteza (Galván y Weinberger, 2002; Weinberger, 1998, 2003). Así, se ha observado que la plasticidad es asociativa, es decir, requiere de la asociación contingente entre estímulos (Bakin y col., 1992), es altamente específica respecto al EC utilizado en el aprendizaje (Bakin y Weinberger, 1990), presenta la capacidad de discriminar entre estímulos (Bakin y col., 1996; Edeline y col., 1990; Edeline y Weinberger, 1993), se desarrolla rápidamente (Edeline y col., 1993) e induce cambios que se consolidan y se mantienen a largo plazo (Edeline y Weinberger, 1993; Galván y Weinberger, 2002; Weinberger y col., 1993).

2.6.2.2. Plasticidad cortical inducida por la estimulación eléctrica del NBM

Los estudios comentados en el apartado anterior [ver apartado 2.6.2.1.] han sido relevantes no sólo por la constatación de que el aprendizaje comporta plasticidad sináptica, sino también porque han sentado las bases teóricas y metodológicas para evaluar la implicación del NBM y del sistema colinérgico en procesos de plasticidad cortical.

Así, un estudio electrofisiológico (Maho y col., 1995) mostró que en un condicionamiento clásico, en el que se asociaba un tono acústico con un ligero *shock* eléctrico, la tasa de respuesta de las células del NBM aumentaba significativamente ante la presencia del EC con anterioridad al desarrollo de plasticidad en la corteza auditiva primaria. Esto sugiere que los cambios en el NBM podrían considerarse como un elemento causal de la plasticidad observada en el campo receptor cortical. Por otro lado, Oh y col., (1996) aportaron evidencias claras sobre la implicación del sistema colinérgico al comprobar que las neuronas del NBM que proyectan a la corteza auditiva primaria incrementaban selectivamente la transcripción del gen para el enzima de la síntesis de la ACh (colina acetiltransferasa) durante un condicionamiento clásico.

Por lo tanto, partiendo del supuesto de que el NBM está críticamente implicado en ciertos tipos de plasticidad inducida por el aprendizaje, diversos autores utilizaron un paradigma experimental en el que se activaba artificialmente esta estructura, evaluando un modelo de condicionamiento. El paradigma consistía en asociar un determinado estímulo sensorial (EC) con la activación del NBM mediante EIC (EI) aplicada antes o después de la presentación del EC, fundamentalmente en animales anestesiados (Bakin y Weinberger, 1996; Edeline y col., 1994a, b; Miasnikov y col., 2001; Rasmusson y Dykes, 1988; Verdier y Dykes, 2001; Webster y col., 1991), aunque también en libre deambulacion (Bjordahl y col., 1998; Dimyan y Weinberger, 1999; Hars y col., 1993; Kilgard y Merzenich, 1998; Kilgard y col., 2001; McLin III y col., 2002a, b, 2003). En estos estudios se utilizaron tanto estímulos acústicos como táctiles, evaluando posteriormente los cambios plásticos en la corteza primaria auditiva o somatosensorial, respectivamente [ver figura 2.6.1.].

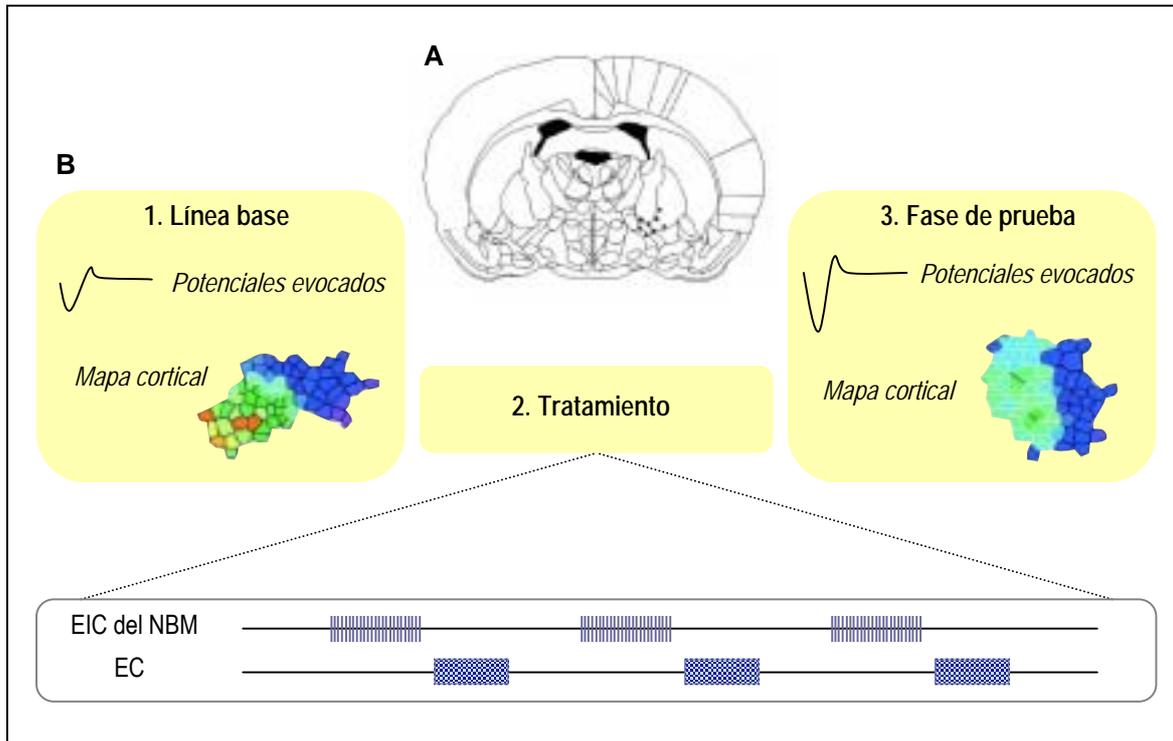


Figura 2.6.1.: Ejemplo de diseño experimental utilizado en los paradigmas de asociación entre un estímulo sensorial y la EIC del NBM, aplicada antes (como ilustra la figura) o después del estímulo. (A) Sección coronal de un cerebro de rata, correspondiente a la coordenada 1.30 mm posterior a Bregma, que muestra la localización de los electrodos de estimulación en el NBM (adaptado de Verdier y Dykes, 2001). (B) Esquema de las principales fases del procedimiento experimental: 1. Línea base: registro de los potenciales evocados o del área cortical sensible al estímulo sensorial que será utilizado en el condicionamiento; 2. Tratamiento: ensayos de emparejamiento entre la EIC del NBM y la presentación del EC; 3. Fase de prueba: presentación del EC (sin la EIC) y registro de las mismas medidas realizadas en la primera fase [EC: estímulo condicionado; EIC: estimulación eléctrica intracraneal].

Todos los trabajos recogidos en la tabla 2.6.1. muestran resultados que van en la misma línea que los observados en los estudios de plasticidad inducida por el aprendizaje comentados en el apartado anterior [ver 2.6.2.1.]. Los primeros estudios en mostrar que la estimulación del NBM puede inducir procesos de plasticidad se llevaron a cabo utilizando la estimulación táctil como EC (Rasmusson y Dykes, 1988; Tremblay y col., 1990; Webster y col., 1991), no obstante, el porcentaje más elevado de trabajos existentes en la literatura científica corresponden a los que evalúan la plasticidad mediante la asociación de un estímulo acústico (Weinberger, 2003).

AUTORES	MÉTODO	RESULTADOS
<i>ESTÍMULO CONDICIONADO TÁCTIL → REGISTRO EN CORTEZA SOMATOSENSORIAL PRIMARIA</i>		
Rasmusson y Dykes, 1988	· EIC-NBM + EC	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 4.5 h.
Tremblay y col., 1990	· EIC-NBM + EC · Administración de atropina	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 1 h. · Bloqueo por atropina
Webster y col., 1991	· EIC-NBM + EC	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 50 min.
Verdier y Dykes, 2001	· EIC-NBM + EC · Administración de MK-801 (antagonista NMDA) (i.p.) · Administración de L-NAME (inhibidor del ONS) (i.v.)	↑ potenciales evocados · Duración máxima > 2 h. · Bloqueo por ambas sustancias
<i>ESTÍMULO CONDICIONADO ACÚSTICO → REGISTRO EN CORTEZA AUDITIVA PRIMARIA</i>		
Hars y col., 1993	· EIC-NBM + EC · Administración de atropina	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 15 min. · Bloqueo atropina
Edeline y col., 1994a	· EIC-NBM + EC · Intensidad EIC alta → desincronización EEG · Intensidad EIC baja → no desincronización · Administración de atropina	↑ potenciales evocados con intensidad alta · Duración máxima > 15 min. · Bloqueo por atropina
Edeline y col., 1994b	· EIC-NBM + EC · Administración de atropina	↑ potenciales evocados · Bloqueo por atropina
Bakin y Weinberger, 1996	· EC + EIC-NBM · Administración de atropina	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 30 min. · Bloqueo por atropina
Bjordahl y col., 1998	· EC + EIC-NBM	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 24 h.
Kilgard y Merzenich, 1998	· EIC-NBM + EC / EC + EIC-NBM	↑ del área cortical sensible al EC
Dimyan y Weinberger, 1999	· EC + EIC-NBM	↑ potenciales evocados · Duración máxima de 60 min.
Kilgard y col., 2001	· EC + EIC-NBM	↑ del área cortical sensible a determinadas variaciones acústicas
Miasnikov y col., 2001	· EC + EIC-NBM · Administración de atropina	↑ potenciales evocados · Bloqueo por atropina
<i>MEDIDAS CONDUCTUALES</i>		
McLin III y col., 2002a, 2003	· EC (tono) + EIC-NBM	· Cambios en EEG, tasa cardíaca y respiración ante el EC

Tabla 2.6.1.: Efectos de la asociación de un estímulo sensorial con la EIC del NBM aplicada antes o después del EC, así como también los efectos generados por la administración de determinadas sustancias. [EC: estímulo condicionado; EEG: electroencefalograma; EIC: estimulación eléctrica intracraneal; i.p.: administración intraperitoneal; i.v.: administración intravenosa; NBM: núcleo basal magnocelular; ONS: óxido nítrico sintasa; ↑: incremento].

Uno de los efectos más comúnmente observado en los estudios expuestos en la tabla anterior es el aumento significativo en los potenciales evocados que tiene lugar en las neuronas corticales ante la presentación del EC utilizado en el paradigma de condicionamiento [ver figura 2.6.2.]. Este dato ha sido interpretado por los diferentes autores como resultado de un fortalecimiento de las conexiones sinápticas que conducen la información referente al tipo de estímulo utilizado en el experimento (Rasmusson, 2000; Verdier y Dykes, 2001). Además, en esta facilitación la ACh parece estar implicada de forma crítica, ya que la administración de atropina bloquea dicho efecto (Bakin y

Weinberger, 1996; Edeline y col., 1994a, b; Hars y col., 1993; Miasnikov y col., 2001; Tremblay y col., 1990).

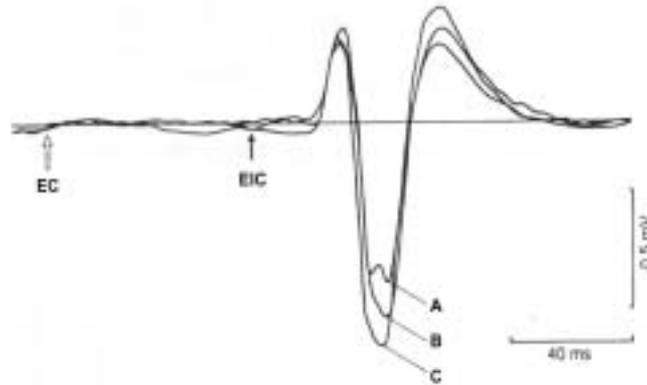


Figura 2.6.2.: Gráfica que muestra la superposición de ondas registradas por un osciloscopio correspondientes a los potenciales evocados por un estímulo táctil (EC) utilizado en el paradigma experimental. (A) Sujeto control (no asociación de la EIC del NBM con el EC). (B) Onda registrada con la presentación del EC 3 minutos después del emparejamiento y (C) 50 minutos después. Estos resultados sugieren que los cambios generados por la activación del NBM se mantienen a largo plazo [EC: estímulo condicionado; EIC: estimulación eléctrica intracraneal]. Adaptado de Webster y col., 1991.

Por otro lado, cuando los cambios en la respuesta neuronal se evalúan en múltiples regiones a lo largo de la corteza sensorial, con el objetivo de determinar la superficie del área cortical que responde al estímulo presentado, se observa una notable expansión del área siendo, en algunas ocasiones, el doble del tamaño original (Kilgard y Merzenich, 1998) [ver figura 2.6.3.]. Esto sugiere que la inducción de plasticidad por medio de la activación artificial del NBM también se traduce en procesos de reorganización de la corteza sensorial, la ocurrencia de los cuales puede ser bloqueada por la lesión selectiva del NBM. En este sentido, un estudio reciente (Conner y col., 2003) ha constatado que la lesión selectiva de las neuronas colinérgicas del NBM no sólo deteriora la adquisición de una determinada tarea -en este caso, de tipo motriz y no asociativa-, sino que también impide que tengan lugar los procesos de reorganización cortical observados en los sujetos de control. Los datos de este estudio proporcionan evidencias que sugieren que la integridad de las neuronas colinérgicas del NBM es necesaria para inducir procesos de plasticidad cortical y, por ende, posibilitar el aprendizaje de determinadas tareas.

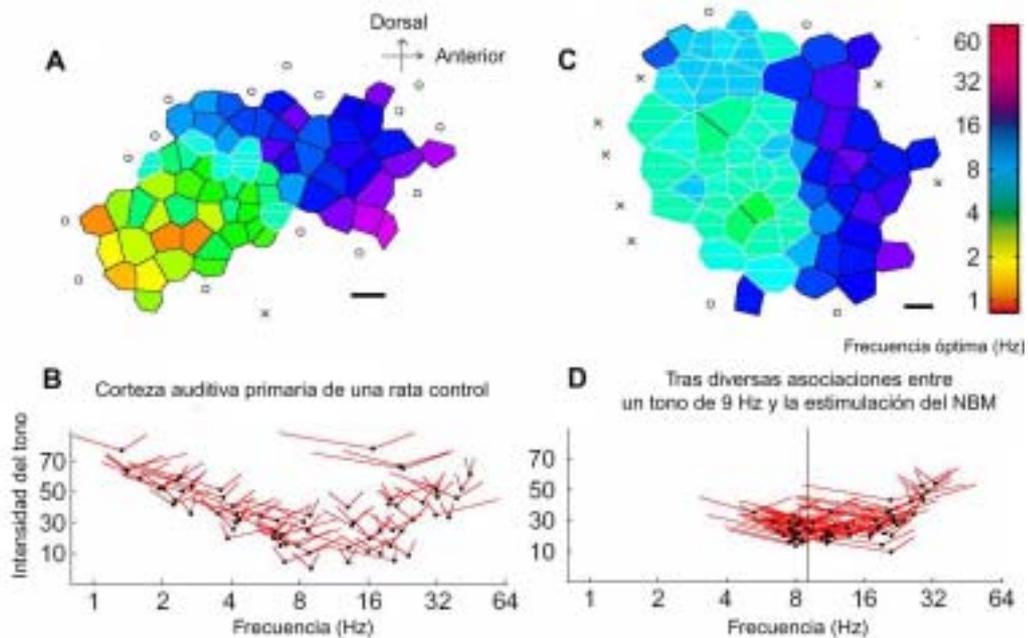


Figura 2.6.3.: Organización topográfica y reorganización de la corteza auditiva primaria de una rata tras un paradigma de asociación entre un tono y la EIC del NBM. (A) Mapa representativo de una rata control que muestra la organización normal de la corteza para diferentes frecuencias acústicas. Cada polígono representa el lugar de penetración de cada uno de los microelectrodos de registro. El color indica la frecuencia óptima de cada zona registrada. Las regiones marcadas de azul más claro indican los campos receptores sensibles a la frecuencia de un tono de 9 Hz. Escala: 0.25 mm. (B) Gráfica que ilustra cada uno de los campos receptores de procesamiento de una frecuencia acústica determinada, así como la extensión correspondiente a cada campo. (C) Mapa representativo de una rata experimental que muestra la reorganización cortical tras 4 semanas de asociación de un tono de 9 Hz y la EIC del NBM. (D) Gráfica que ilustra el incremento en el tamaño del campo receptor correspondiente al procesamiento de tonos de alrededor de 9 Hz de frecuencia como consecuencia de la activación del NBM. Adaptado de Kilgard y Merzenich, 1998.

2.6.2.3. Variables que influyen en la plasticidad inducida por la estimulación eléctrica del NBM

Los resultados descritos hasta el momento son bastante consistentes a lo largo de los diferentes estudios ya que se observan bajo distintas condiciones experimentales, como por ejemplo, la utilización de un EC táctil o auditivo, sujetos anestesiados o despiertos, número de ensayo variable o la aplicación de la EIC del NBM antes o después del EC. Sin embargo, gracias, precisamente, a las diferentes modificaciones experimentales también se ha podido comprobar que la inducción de plasticidad en la corteza sensorial por la asociación de un EC con la EIC del NBM puede verse influida por una serie de variables entre las que se pueden destacar las comentadas a continuación.

Una de las condiciones necesarias para que tengan lugar los procesos de plasticidad es que debe haber una asociación contingente entre el EC y la EIC del NBM, ya que se ha comprobado que si ambas variables se presentan por separado o de forma no asociada no se activan los mecanismos necesarios subyacentes a la plasticidad

neural (Bakin y Weinberger, 1996; Edeline y col., 1994a; Kilgard y Merzenich, 1998; McLin III y col., 2002a, 2003; Rasmusson y Dykes, 1988; Verdier y Dykes, 2001; Webster y col., 1991). Esta condición también era necesaria en el caso de la plasticidad inducida por un proceso natural de aprendizaje [ver apartado 2.6.2.1.]. De hecho, la plasticidad inducida por la EIC del NBM presenta las mismas características que la observada en situaciones de aprendizaje asociativo (Weinberger, 2003). Por ejemplo, es un tipo de plasticidad específica, propiedad que ha sido constatada por el hecho de que las mayores respuestas neuronales (Hars y col., 1993; Rasmusson y Dykes, 1988; Tremblay y col., 1990; Verdier y Dykes, 2001; Webster y col., 1991; Weinberger, 2003) y conductuales (McLin III y col., 2002a, 2003) son generadas por el EC utilizado en el paradigma experimental. También es discriminativa, propiedad observada en tareas de discriminación entre dos tonos en el que uno de ellos se asocia con la EIC del NBM mientras que el otro se presenta solo (Bakin y Weinberger, 1996; Dimyan y Weinberger, 1999; Kilgard y Merzenich, 1998; McLin III y col., 2002a, 2003; Miasnikov y col., 2001). Puede ser inducida rápidamente, incluso en una única sesión de 30 ensayos (Dimyan y Weinberger, 1999) y también se observa consolidación, es decir, un mantenimiento a largo plazo en el incremento de las respuestas neuronales sin necesidad de un entrenamiento adicional (Bjordahl y col., 1998; Dimyan y Weinberger, 1999; Rasmusson y Dykes, 1988; Verdier y Dykes, 2001).

En referencia a las características de la EIC, los estudios planteados hasta el momento han utilizado parámetros ligeramente diferentes, como queda reflejado en la tabla 2.6.2. A pesar de ello, la activación inducida en el NBM en cada uno de estos experimentos permitió la inducción de procesos de plasticidad neuronal. Para proporcionar una explicación en este sentido, los diversos autores se han basado en la estrecha relación existente entre la activación cortical, evaluada por la desincronización del EEG, y los procesos de plasticidad neuronal. Así, los parámetros de EIC que se utilizan para activar el NBM en este tipo de experimentos suelen ser aquellos que previamente se ha comprobado que provocan desincronización del EEG cortical (Bjordahl y col., 1998; McLin III y col., 2002a). Dos de los estudios que han proporcionado evidencias más claras en este sentido son los realizados por Bjordahl y col. (1998) y Edeline y col. (1994a), los cuales demostraron que la plasticidad neuronal solamente era posible inducirla mediante una estimulación que generase desincronización cortical.

AUTORES	FRECUENCIA PULSOS	DURACIÓN PULSO	FRECUENCIA TREN	DURACIÓN TREN	INTENSIDAD
<i>INDUCCIÓN DE PROCESOS DE PLASTICIDAD CORTICAL</i>					
Bjordahl y col., 1998	200 Hz	0.2 ms	1 Hz	500 ms	100-400 μ A
Dimyan y Weinberger, 1999	200 Hz	0.2 ms	1 Hz	500 ms	50-500 μ A
Miasnikov y col., 2001	100 Hz	0.2 ms	1 Hz	100-600 ms	200-500 μ A
McLin III y col., 2003	100 Hz	0.2 ms	1 Hz	200 ms	80-105 μ A
<i>DESINCRONIZACIÓN DEL EEG CORTICAL</i>					
Bakin y Weinberger, 1996	200 Hz	0.2 ms	1 Hz	500 ms	150-500 μ A
McLin III y col., 2002b	100 Hz	0.2 ms	1 Hz	200 ms	50-100 μ A
Golmayo y col., 2003	100 Hz	0.3 ms	1 Hz	200 ms	20-200 μ A
<i>LIBERACIÓN DE ACh CORTICAL</i>					
Rasmusson y col., 1992	100 Hz	1 ms	1 Hz	180 ms	2 μ A
Jiménez-Capdeville y col., 1997	100 Hz	0.2 ms	1 Hz	100-500 ms	400-500 μ A

Tabla 2.6.2.: Ejemplo de los parámetros de EIC utilizados en algunos de los experimentos que han demostrado efectos a nivel cortical como la inducción de plasticidad, desincronización del EEG o aumentos en la liberación colinérgica, tras la estimulación del NBM.

Una de las variables procedimentales que merece especial atención es el momento en el que se administra la EIC del NBM. Los datos indican que la aplicación de la estimulación antes o después de la presentación del EC no parece ser una variable clave ya que los resultados obtenidos con ambas aproximaciones metodológicas son similares (Kilgard y Merzenich, 1998). Sin embargo, la relevancia de este aspecto no radica tanto en los resultados sino más bien en la interpretación de éstos. Los autores que en sus experimentos estimulan el NBM antes de la presentación del EC parten del supuesto de que la facilitación observada en las respuestas neuronales de la corteza sensorial depende, en gran parte, del aumento en la liberación de ACh cortical como consecuencia de la activación del NBM, facilitación que, además, puede ser mantenida durante un cierto tiempo (Weinberger, 1998). Así, el estado neural de la corteza cerebral en el momento en que tiene lugar la presentación del estímulo sensorial puede actuar como un factor que señala la importancia conductual del estímulo presentado, facilitando en consecuencia el procesamiento de la información y posibilitando cambios a largo plazo (Edeline y col., 1994b; McLin III y col., 2002a, 2003). Por otro lado, los grupos de investigación que estimulan el NBM tras la presentación del EC plantean una hipótesis alternativa aunque no excluyente a la anterior. En este tipo de experimentos, la EIC del NBM es utilizada como sustituto de un reforzador o de un estímulo aversivo -por ejemplo, una comida o un *shock* eléctrico, respectivamente-. La liberación fásica adicional de ACh, generada por la activación del NBM tras la presentación del EC, podría indicar a la corteza cerebral que un evento importante acaba de tener lugar y, en consecuencia, promover su almacenamiento (Weinberger, 1998). Por lo tanto, el aumento de los

potenciales evocados observado ante los estímulos asociados a la EIC del NBM es interpretado como que la estimulación ha ejercido un papel señalizador de la relevancia de dichos estímulos favoreciendo, en consecuencia, mecanismos de procesamiento y plasticidad neural a largo plazo (Dimyan y Weinberger, 1999; Kilgard y Merzenich, 1998; Weinberger, 1998).

En resumen, ambos planteamientos presentan hipótesis complementarias ya que coinciden en atribuir al sistema colinérgico del NBM la función de señalar aquellos estímulos con características significativas para el sujeto, facilitando la inducción de procesos de plasticidad neuronal a largo plazo que, en última instancia, facilitarían también tanto la adquisición y procesamiento de la información como el almacenamiento de ésta (McLin III y col., 2003; Weinberger, 1998, 2003).

2.6.3. Mecanismos de inducción de la plasticidad cortical

Actualmente, los mecanismos celulares concretos por los que la EIC del NBM genera los procesos de plasticidad neuronal descritos son en gran parte desconocidos. A pesar de ello, la ACh parece ser el principal neurotransmisor implicado en la inducción de los cambios plásticos corticales en los trabajos comentados. Estas evidencias se exponen de forma esquemática en la tabla 2.6.3.

AUTORES	MÉTODO	RESULTADOS
Metherate y col., 1987	Administración cortical de ACh	↑ potenciales evocados ante el EC ↓ · Bloqueo por atropina
Delacour y col., 1990		
Metherate y col., 1990		
Weinberger, 1995; 1998		
Ji y col., 2001		
Casamenti y col., 1986	EIC del NBM	↑ liberación de ACh cortical
Kurosawa y col., 1989a, b		
Rasmuson y col., 1992		· Bloqueo de la desincronización del EEG por atropina
Jiménez-Capdeville y col., 1997		
Metherate y Ashe, 1991		
Bakin y Weinberger, 1996		
Golmayo y col., 2003		
Hars y col., 1993	Asociación EC + EIC del NBM	↑ potenciales evocados ante el EC ↓ · Bloqueo por atropina
Edeline y col., 1994a, b		
Bakin y Weinberger, 1996		
Miasnikov y col., 2001		

Tabla 2.6.3.: Efectos de diversas manipulaciones del sistema colinérgico sobre variables como los potenciales evocados ante la presentación de determinados estímulos, la desincronización del EEG cortical o los niveles de liberación de ACh en la corteza cerebral.

Para dar respuesta a la cuestión de cómo la ACh induce tal plasticidad, en la actualidad no existen evidencias definitivas al respecto aunque sí se han planteado diversas hipótesis explicativas. Rasmusson (2000) destaca básicamente dos posibles alternativas: por un lado, indica que diversos investigadores (Dykes, 1997; Verdier y Dykes, 2001; Woolf, 1996) han sugerido que la ACh puede ejercer un papel como agente permisivo, es decir, proporcionar las condiciones neurales necesarias para que tenga lugar la plasticidad cortical. Para ilustrar esta hipótesis, diferentes autores hacen referencia a la interacción funcional existente entre la acción de la ACh sobre los receptores muscarínicos postsinápticos y la activación de los receptores NMDA del glutamato, relacionados con la potenciación a largo plazo (Harvey y col., 1993; Jones y col., 1999; Lucas-Meunier y col., 2003; Martin y col., 2000; Rasmusson, 2000; Verdier y Dykes, 2001; Woolf, 1996, 1998). La apertura del canal de calcio acoplado al receptor NMDA requiere de la combinación de dos elementos: la unión del glutamato y un nivel de despolarización postsináptico suficientemente elevado como para que el ión de magnesio desbloquee el canal (Cooper y col., 2003; Edwards, 1995). En este sentido, la ACh podría actuar como agente facilitador, probablemente mediante una acción despolarizadora de la neurona postsináptica (Harvey y col., 1993; Jones y col., 1999; Lucas-Meunier y col., 2003; Martin y col., 2000; Woolf, 1996, 1998). De este modo, las señales excitadoras procedentes de *inputs* sensoriales podrían generar más fácilmente la apertura de los canales del receptor NMDA induciendo, en última instancia, una facilitación a largo plazo de las respuestas neuronales ante tales estímulos sensoriales (Verdier y Dykes, 2001). Este parece ser el mecanismo más probable, aunque también se ha planteado que la ACh podría facilitar la plasticidad mediada por los receptores NMDA a través de la regulación presináptica del neurotransmisor liberado (Aoki y Kabak, 1992; Broide y Leslie, 1999; Gray y col., 1996; Linster y col., 2003; Lucas-Meunier, 2003). La hipótesis de la interacción entre ACh y receptores NMDA como posible mecanismo implicado en la plasticidad sináptica a largo plazo ha recibido un importante apoyo experimental procedente de estudios como el de Verdier y Dykes (2001), quienes comprobaron que el aumento de la liberación de ACh inducida por la activación del NBM puede ser impedida por la administración de MK-801, bloqueador de los receptores NMDA.

No obstante, a pesar de que actualmente esta última hipótesis es la que está recibiendo mayor apoyo científico, también existen datos a favor de una hipótesis alternativa, es decir, concebir la liberación de ACh cortical como un proceso inductor de plasticidad independiente del mecanismo del receptor NMDA. En este sentido, varios estudios han demostrado que la ACh puede inducir determinados procesos plásticos ante la presencia de antagonistas del receptor NMDA (Auerbach y Segal, 1994, 1996).

En relación a las diversas hipótesis planteadas, otros autores sugieren que la acción de la ACh sobre los receptores muscarínicos podría ser crítica fundamentalmente en procesos de adquisición de información nueva, mientras que la implicación de receptores NMDA estaría básicamente relacionada con la consolidación de dicha información (Ferreira y col., 2002; Gutiérrez y col., 1999c; Martin y col., 2000; Woolf, 1998). En este sentido, un estudio reciente en el cual el bloqueo de los receptores NMDA de la corteza mediante AP5, aplicado antes de la presentación del sabor nuevo en un paradigma de ACG, impide la memoria a largo plazo de dicha tarea sin provocar deterioro alguno en la memoria a corto plazo. Por el contrario, la administración intracortical de escopolamina, antagonista muscarínico, antes del nuevo sabor evita tanto la memoria a corto plazo como a largo plazo (Ferreira y col., 2002).

En definitiva, las diferentes hipótesis no parecen plantear alternativas mutuamente excluyentes sino que, como sugiere Rasmusson (2000), lo más probable es que en una misma sinapsis actúe más de un mecanismo para que, finalmente, tengan lugar los procesos de plasticidad neural subyacentes a funciones cognitivas como el aprendizaje o la memoria. En cualquier caso, parece que para iniciar dichos mecanismos es necesario que la cantidad de ACh disponible a nivel cortical exceda un determinado umbral. Los autores que plantean esta hipótesis se basan en el hecho de que las neuronas del NBM presentan una actividad espontánea (Détári y col., 1997; Détári y Vanderwolf, 1987; Núñez, 1996) y, en consecuencia, una liberación colinérgica tónica en la corteza (Jiménez-Capdeville y Dykes, 1996; Rasmusson y col., 1992, 1994), aspectos que podrían considerarse aparentemente contradictorios con el papel de la ACh como inductora de procesos plásticos. Un dato a favor es que la duración del incremento en la respuesta neuronal a un tono en la corteza auditiva primaria aumenta con la intensidad de la EIC del NBM y, presumiblemente, por la mayor cantidad de ACh liberada (Edeline y col., 1994a).

Por otro lado, los diversos investigadores que han utilizado el paradigma de asociación entre un estímulo sensorial y la EIC del NBM también se plantean la cuestión de cuáles son los circuitos neurales que se activan para inducir los procesos de plasticidad cortical observados con dichos paradigmas (Cruikshank y Weinberger, 1996; Rasmusson, 2000). En la mayoría de estos estudios, se considera como explicación más probable que la inducción de plasticidad sináptica es posible gracias a la convergencia a nivel cortical del incremento de los niveles de ACh, generado por la EIC del NBM, y el *input* de información del estímulo sensorial procedente del tálamo (Dimyan y Weinberger, 1999; Metherate y Ashe, 1991, 1993; Rasmusson y Dykes, 1988) [ver figura 2.6.4.].

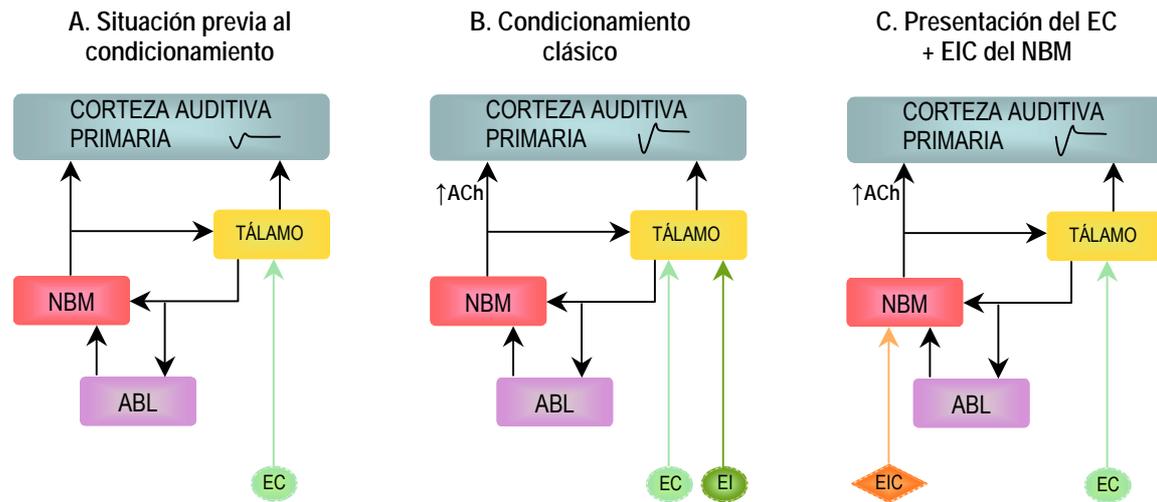


Figura 2.6.4.: Autores como Dimyan y Weinberger (1999) plantean que en un hipotético condicionamiento entre un tono (EC) y un estímulo aversivo como un *shock* eléctrico (EI), la plasticidad sináptica podría ser inducida de la siguiente manera: (A) previamente al condicionamiento, el *input* cortical del estímulo acústico genera un determinado nivel de respuesta en la corteza auditiva primaria. (B) Durante el condicionamiento, el *input* del EC y del EI convergerían en el tálamo. Tras diversos ensayos de asociación, las respuestas del tálamo ante el EC se incrementarían significativamente, lo cual podría activar al NBM -directamente o a través de la ABL-, produciendo un incremento en la liberación de ACh cortical, incluyendo la corteza auditiva primaria. En dicha corteza podría haber una convergencia entre las respuestas neuronales ante el EC y la liberación colinérgica, lo que induciría procesos de plasticidad sináptica. (C) Este modelo predeciría que la activación del sistema colinérgico del NBM mediante EIC, como un sustituto del EI, asociado a la presentación de un EC podría generar plasticidad y, por lo tanto, favorecer procesos cognitivos. [ABL: amígdala basolateral; ACh: acetilcolina; EC: estímulo condicionado; EI: estímulo incondicionado; EIC: estimulación eléctrica intracraneal; NBM: núcleo basal magnocelular].

Finalmente y a pesar de que la implicación del sistema colinérgico en la modulación de los procesos de activación y de plasticidad cortical parece ser un hecho bien establecido, autores como Kilgard y Merzenich (1998) o Rasmusson (2000) consideran que plantear explicaciones centradas exclusivamente en la neurotransmisión colinérgica del NBM puede ser excesivamente simplista. En las proyecciones corticales procedentes del NBM existe un importante componente GABAérgico que desempeña una función paralela a la de la ACh en la regulación de la activación cortical (Gritti y col., 1997, 2003; Jiménez-Capdeville y col., 1997). En este sentido, Dykes (1997) sugirió que la modulación que el NBM puede ejercer sobre la corteza podría llevarse a cabo, en primer lugar, por la desinhibición GABAérgica de interneuronas corticales seguida, posteriormente, por los efectos excitadores de la ACh de desarrollo más lento. Ambos procesos actuarían de forma sinérgica promoviendo un estado prolongado de excitación neuronal durante el cual la transmisión de información sensorial se vería significativamente facilitada, gracias probablemente a la implicación de receptores NMDA (Verdier y Dykes, 2001). Por lo tanto, el GABA, junto con otros neurotransmisores posiblemente presentes en las proyecciones corticales, como el glutamato (Henny y col., 2002; Manns y col., 2001), podrían contribuir en procesos de plasticidad neuronal inducidos por la activación del NBM mediante EIC.

TRABAJO EXPERIMENTAL

III. TRABAJO EXPERIMENTAL

Tal y como se ha comentado en el apartado *Planteamiento y objetivos generales*, diversos trabajos realizados en nuestro laboratorio han demostrado que la estimulación eléctrica de estructuras neurales (HL y PF) involucradas en sistemas de neuromodulación generadores de *arousal* cortical facilita los procesos de aprendizaje y memoria de tareas como la EV2. Además, datos procedentes de trabajos realizados por otros grupos de investigación señalan que la EIC del NBM genera una serie de efectos neurofisiológicos (activación cortical y amigdalal, liberación de ACh e inducción de plasticidad neural) que sugieren la implicación de esta estructura en procesos de aprendizaje y memoria [ver apartados 2.1. y 2.6.]. En este contexto, es plausible suponer que la estimulación del NBM durante momentos críticos del proceso de aprendizaje pueda dar a lugar a efectos facilitadores, en este caso, de la tarea de condicionamiento de EV2. En consecuencia, en el primer experimento de la presente tesis doctoral nos planteamos evaluar los efectos de la EIC del NBM aplicada post-entrenamiento sobre la retención de la EV2, tanto a corto como a largo plazo. En este experimento también se analizó la presencia de posibles efectos diferenciales de la EIC del NBM en función del nivel de adquisición basal mostrado por los sujetos, ya que experimentos previos demuestran que la estimulación de estructuras moduladoras, como el PF (Guillazo-Blanch y col., 1999) y el HL (Aldavert-Vera y col., 1996), favorece especialmente a animales con un nivel inicial de aprendizaje bajo. Por otro lado, la contribución concreta del NBM en funciones específicas como la atención, el aprendizaje, la consolidación de la memoria y la recuperación de la información es en la actualidad objeto de gran controversia. En este sentido, el segundo trabajo fue diseñado para evaluar los efectos de la EIC del NBM en la adquisición, la retención y la recuperación de la información del condicionamiento de EV2, aplicando el tratamiento en momentos críticos del proceso de aprendizaje.

1. EXPERIMENTO I

1.1. OBJETIVOS Y PROCEDIMIENTO

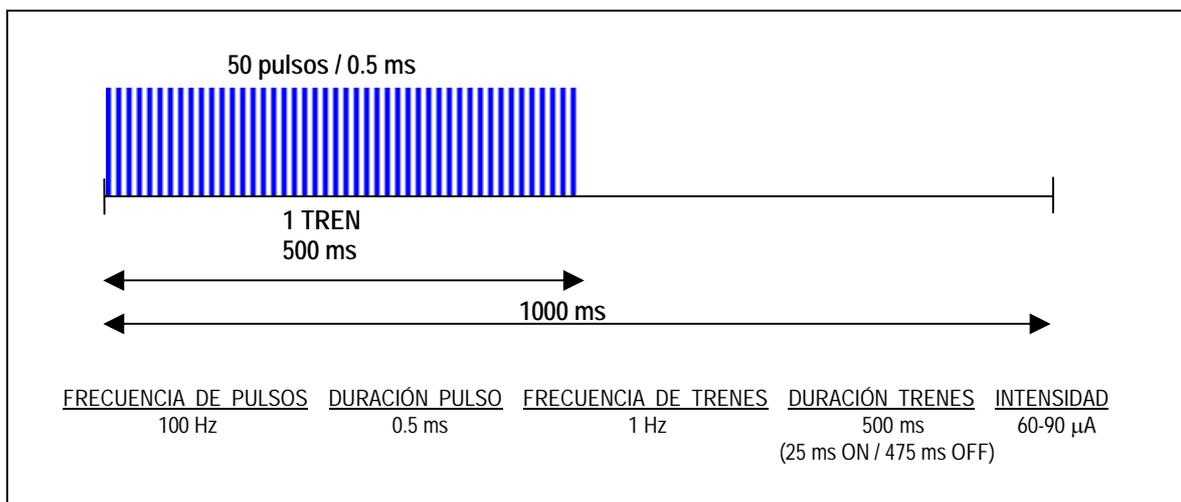
Los objetivos de este primer experimento se concretan en los siguientes:

- Evaluar los efectos de la EIC del NBM aplicada post-entrenamiento sobre la retención a las 24 horas o a los 11 días en un paradigma masivo de condicionamiento de EV2.
- Estudiar si el tratamiento muestra efectos diferenciales en función del nivel de aprendizaje inicial de los sujetos.

Para ello, los sujetos de la muestra fueron asignados aleatoriamente a los siguientes grupos experimentales: Control 24 horas, EIC-NBM 24 horas, Control 11 días y EIC-NBM 11 días. La distribución del número de sujetos obtenida se muestra en la siguiente tabla:

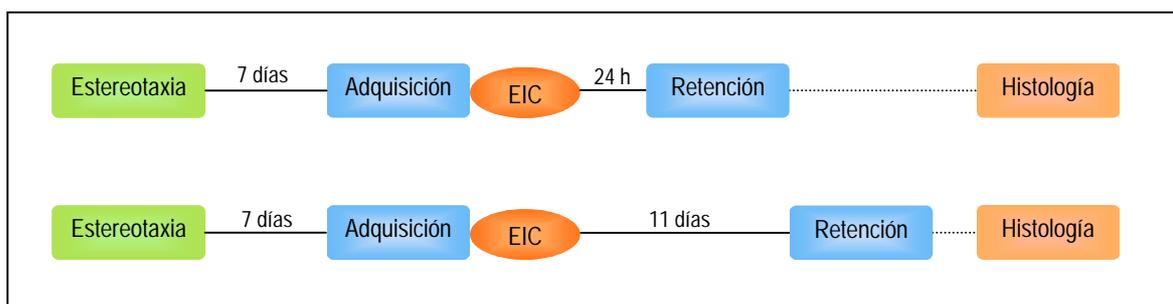
	Retención a las 24 horas	Retención a los 11 días
Control	9 (<i>No-ICS 24 hours</i>)	12 (<i>No-ICS 11 days</i>)
EIC-NBM	12 (<i>NBM-ICS 24 hours</i>)	9 (<i>NBM-ICS 11 days</i>)

El procedimiento llevado a cabo consistió en una primera sesión de entrenamiento de 30 ensayos en la tarea de EV2 (*sesión de adquisición*). Inmediatamente después, los sujetos pertenecientes a los grupos EIC-NBM 24 horas y EIC-NBM 11 días recibieron tratamiento de estimulación durante 20 minutos con los parámetros indicados en el siguiente esquema:



Los sujetos de los grupos Control fueron también situados en la jaula de EIC durante 20 minutos con el electrodo conectado pero sin recibir estimulación.

Para evaluar el nivel de retención, todos los sujetos recibieron otra sesión de 30 ensayos (*sesión de retención*) bien 24 horas u 11 días después de la *sesión de adquisición*, en función del grupo al que perteneciesen. La siguiente figura esquematiza el procedimiento seguido en el experimento:



Posteriormente, para evaluar los efectos de la EIC dependiendo del nivel basal de aprendizaje, los sujetos de cada grupo se subdividieron en *sujetos muy aprendedores* (*good learners*) y *sujetos poco aprendedores* (*poor learners*). Esta subdivisión se realizó a partir de la media total de respuestas correctas mostradas por todos los sujetos de la muestra en la primera sesión de adquisición (= 8 evitaciones). Así, los *sujetos muy aprendedores* fueron los que realizaron un número de evitaciones igual o superior a la media general, y los *sujetos poco aprendedores* los que mostraron un número de respuestas correctas inferior a la media. Por lo tanto, considerando esta última variable, se obtuvo una muestra final constituida por 8 grupos con la distribución del número de sujetos que muestra la siguiente tabla:

		Sujetos muy aprendedores	Sujetos poco aprendedores
Retención a las 24 horas	Control	5	4
	EIC-NBM	5	7
Retención a los 11 días	Control	8	4
	EIC-NBM	3	6

1.2. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Los principales resultados obtenidos en este experimento son los siguientes:

- Los sujetos estimulados en el NBM mostraron un mayor incremento de respuestas correctas entre la sesión de adquisición y la de retención respecto a los controles, tanto si la retención se evaluaba a las 24 horas como a los 11 días.
- El efecto facilitador de la EIC administrada post-entrenamiento fue especialmente efectivo en los *sujetos poco aprendedores* independientemente de si la retención se realizaba a las 24 horas o a los 11 días.

Es importante destacar que los análisis estadísticos no mostraron efectos de la estimulación en la actividad locomotriz durante las sesiones de entrenamiento, ni en las latencias de evitación y huida del *shock* eléctrico, variables que podrían haber interferido sobre los efectos del tratamiento.

En definitiva, estos resultados muestran que el tratamiento de EIC del NBM administrado post-entrenamiento mejora tanto la retención a corto (24 horas) como a largo plazo (11 días) de la tarea de EV2, especialmente en sujetos con un bajo nivel de aprendizaje inicial, pareciendo no afectar a los que ya muestran un nivel elevado de respuestas correctas en la sesión de adquisición, debido probablemente a un efecto techo. Estos resultados son comparables a los obtenidos en otros trabajos realizados en nuestro laboratorio que muestran un efecto facilitador de la EIC del PF sobre la retención del condicionamiento de EV2 (Guillazo-Blanch y col., 1995; Sos-Hinojosa y col., 2000; Vale-Martínez y col., 1998), así como también un mayor efecto del tratamiento en los sujetos con niveles bajos en la primera sesión de adquisición de la tarea (Guillazo-Blanch y col., 1999). No obstante, considerando que éste constituye el primer experimento que evalúa los efectos de la EIC del NBM directamente en tareas conductuales se hace imposible poder comparar estos resultados con estudios previos similares. Así, para dar respuesta a la pregunta de cómo este tratamiento ejerce sus efectos facilitadores sobre la retención de la EV2 nos debemos basar en datos que muestran que la EIC de esta estructura parece proporcionar condiciones fisiológicas óptimas, tales como incremento en la activación de neuronas colinérgicas que generan *arousal* cortical, para producir los cambios neurales necesarios para mejorar y/o fortalecer las conexiones nerviosas subyacentes a los procesos de consolidación de la memoria.

1.3. PRESENTACIÓN DEL TRABAJO

Montero-Pastor, A. Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Nadal-Alemany, R., Martí-Nicolovius, M. & Morgado-Bernal, I. (2001). Nucleus basalis magnocellularis electrical stimulation facilitates two-way active avoidance retention, in rats. *Brain Research*, 900(2):337-341.

Short communication

Nucleus basalis magnocellularis electrical stimulation facilitates two-way active avoidance retention, in rats

Ana Montero-Pastor, Anna Vale-Martínez, Gemma Guillazo-Blanch, Roser Nadal-Alemany, Margarita Martí-Nicolovius, Ignacio Morgado-Bernal*

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut, Facultat de Psicologia, Edifici B, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona, Spain

Accepted 20 February 2001

Abstract

We studied the effects of post-training intracranial electrical stimulation of the nucleus basalis magnocellularis on two-way active avoidance retention. After the acquisition, rats were stimulated for 20 min, and they were tested again after 24 h or 11 days. The treatment improved memory consolidation, especially in animals with a low initial learning ability. These facilitative effects could be attributed to an enhancement of cortical and/or amygdala activation, leading to an improvement in associative processes and/or cortical plasticity. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Theme: Neural basis of behavior

Topic: Learning and memory: systems and functions

Keywords: Memory; Basal Forebrain; Arousal

The basal forebrain (BF) consists of the cholinergic neurons of the medial septum, the nuclei of the vertical and horizontal limbs of the diagonal band of Broca, the ventral pallidum, the magnocellular preoptic area, the substantia innominata, and the nucleus basalis magnocellularis (NBM) (for a review see [18,20]). The area has been implicated in a variety of functions, including learning and memory, attention, reward, sensory processing, neocortical and limbic system activation (arousal) and the control of cortical and hippocampal electroencephalographic patterns (for reviews see [2,17,19,20]). Some of those functions have been associated with cholinergic neurons [5,15] which provide the main cholinergic afferents to the cortex, but it is now clear that GABAergic and peptidergic neurons from the BF also project to the cerebral cortex (for a review see [18]). Most of the evidence for the involvement of the BF in those functions comes mainly from experiments studying the behavioral and/or electroencephalographic effects of lesions and stimulation of this

region (for reviews see [11,15]). The lesion approach has also generated substantial information about the possible role played by the loss of BF neurons in Alzheimer's Disease (for a review see [4]).

The intracranial electrical stimulation (ICS) of the BF produces an increase in acetylcholine (ACh) release in the neocortex, assessed by microdialysis [16]. Several studies have explored the cortical plasticity following BF ICS, showing that ACh can produce long-lasting increases in neural responsiveness. Thus, pairing of BF stimulation with peripheral stimulation of the skin or the presentation of a tone produces an enhancement of the somatosensory evoked potentials and facilitates auditory cortical responses elicited by thalamic stimulation, respectively (for a review see [15]). A recent study [3] has also shown that BF ICS induces discriminative receptive field plasticity (a candidate substrate of memory) in the auditory cortex caused by presentation of reinforced but not nonreinforced conditioned stimuli. In some studies, a long interval between BF and peripheral stimulation was used, suggesting that the intracellular effects of ACh must persist for a much longer time than might be expected [7]. As suggested by some authors [8], BF neurons may also be important in

*Corresponding author. Tel.: +34-93-581-2899; fax: +34-93-581-2001.

E-mail address: ignacio.morgado@uab.es (I. Morgado-Bernal).

mediating cortical activation during active waking and paradoxical sleep, which may facilitate processes of binding and plasticity occurring during these states.

Although the effects of NBM lesions on learning and memory tasks are well documented, few studies have been done evaluating the effects of NBM ICS on behavioral processes such as learning. The purpose of the present experiment, focused on memory consolidation, was: (a) to determine the effects of the post-training electrical stimulation of the NBM on the short-(24 h) and long-(11 days) term retention of a massed two-way avoidance task, (b) to ascertain whether exist differential effects depending on the initial learning ability of the animals.

Sixty-five naïve male Wistar rats (mean age 92.8 days, S.E.=0.66; mean weight 442.3 g, S.E.=4.97) were im-

planted, under ketamine (90 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg) anaesthesia, with a monopolar stainless steel electrode (150 μm in diameter) aimed at the NBM (AP: -1.30 mm from bregma; L: $+2.8$ mm; and P: -7.6 mm, with the cranium surface as dorsal reference) in the right hemisphere [14]. The experiment was carried out in compliance with the European Community Council Directive (86/609/EEC) and the Generalitat de Catalunya (DOGC 2073, 10/7/1995, DARP, protocol number 1565).

Following surgical recovery (7 days), animals were trained in a massed session (30 trials) of a two-way active avoidance task (acquisition session). Immediately before the beginning of the first trial of the acquisition, the rats received a 10-min adaptation period consisting of free ambulation in the shuttle-box. The conditioned stimulus

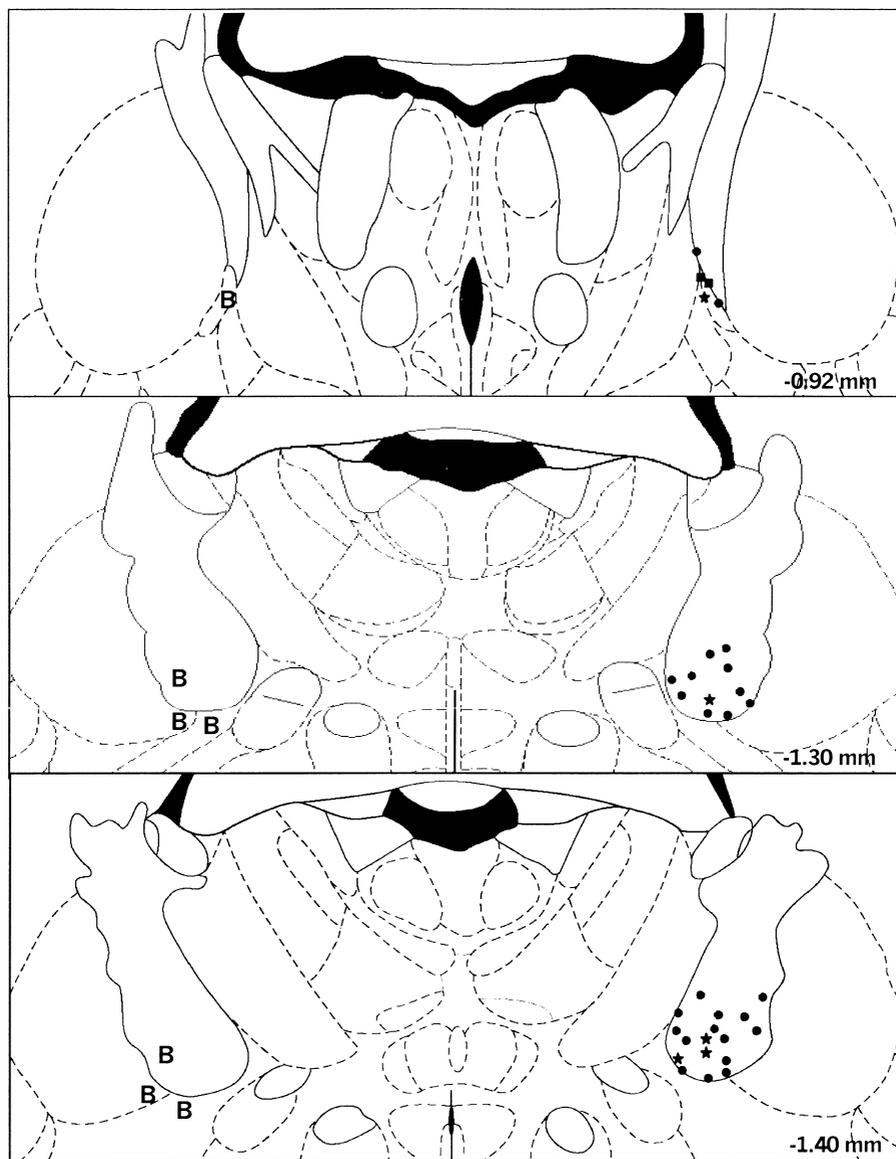


Fig. 1. Electrode tip locations for stimulated (NBM-ICS) and non-stimulated (No-ICS) rats implanted in the nucleus basalis magnocellularis (B). Coronal sections correspond to brain sites between -0.92 mm and -1.40 mm posterior to bregma. Each symbol refers to the number of animals with the electrode tip placed at the site indicated in the section (\bullet $n=1$; \star $n=2$; \blacksquare $n=3$).

was a 60-dB and 1-KHz tone of 3 s duration. The unconditioned stimulus was a 0.5-mA electrical footshock, presented for a maximum of 30 s. The intertrial interval was 1 min (± 10 s). Immediately after the training, experimental rats were stimulated in the NBM for 20 min. The electrical current consisted of square pulse trains with a train frequency of 1 Hz and 500 ms duration. Each train consisted of 50 pulses of 0.5 ms duration each. The current intensity employed was between 60 and 90 μ A. Control rats were placed in the same cage with the electrode clip connected but they never received the ICS treatment. All the rats received one additional avoidance session identical to the acquisition, either 24 h or 11 days after (retention session).

The histological analyses (cresyl violet) showed that the electrodes were located along different brain sites ranging from -0.80 mm to -2.12 mm posterior to bregma. In order to homogenize the NBM region implanted, both stimulated and control groups were made up of rats that showed the electrode tracks located at least in one of the following coordinates: -0.92 mm, -1.30 mm and -1.40 mm posterior to bregma [24 h groups: NBM-ICS ($n=12$) and No-ICS ($n=9$); 11 days groups: NBM-ICS ($n=9$) and No-ICS ($n=12$)]. Rats implanted outside the NBM ($n=13$) and rats that showed the electrode tracks only in coordinates posterior to -1.80 mm ($n=10$) were excluded from the main analyses. Fig. 1 depicts the electrode tip locations for stimulated and non-stimulated rats implanted at the central region of the NBM.

Fig. 2 shows the mean number of avoidances during the acquisition and the retention trials, and Fig. 3 shows the mean increases in avoidances between both sessions. The mixed factors MANOVA showed that the effects of the

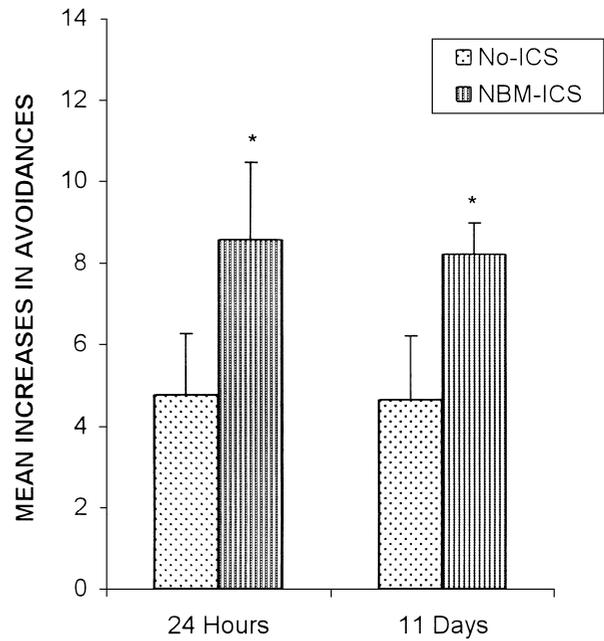


Fig. 3. Mean increases in avoidances (+S.E.M.) between acquisition and retention. * $P < 0.05$ vs. control.

ICS of the NBM depended on the session [ICS \times SESSION: $F(1,38)=5.33$, $P < 0.05$], regardless of the time when the retention was evaluated [TIME; TIME \times SESSION, ICS \times TIME \times SESSION: NS]. Although all the groups showed greater avoidance in the retention period in comparison to the acquisition, this increase was higher in the NBM-ICS groups [No-ICS groups: $F(1,40)=18.79$, $P < 0.001$; NBM-ICS groups: $F(1,40)=60.07$, $P < 0.001$]. An analysis of covariance also indicated differences among

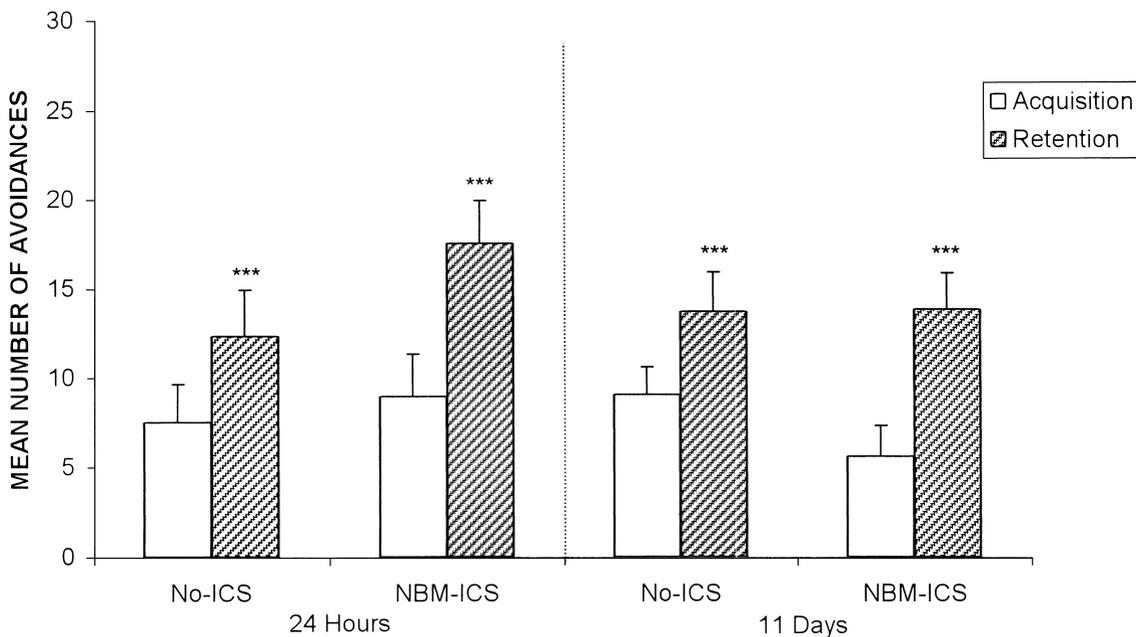


Fig. 2. Mean number of avoidances (+S.E.M.) in the acquisition and retention sessions in the 24-h and 11-day groups. *** $P < 0.001$ vs. acquisition.

groups in the retention due to the treatment, regardless of when retention was evaluated [ICS: $F(1,37)=4.95$, $P<0.05$; Regression: $F(1,37)=46.48$, $P<0.001$]. No statistically significant differences were detected between the animals that were stimulated outside the NBM or in coordinates posterior to -1.80 mm and the No-ICS.

To determine the role of the initial conditioning ability of the animals in the effect of the ICS of the NBM, a separate study was done. Rats were subdivided into two groups depending on their performance in the acquisition session: good learners (made equal or more avoidances than the general mean avoidances) and poor learners (made less than the general mean avoidances). There were significant differences between the good- and poor-learning animals on the acquisition session [$t(40)=8.101$, $P<0.001$]. The treatment was only effective in the poor learners (Fig. 4), regardless of when retention was evaluated, as detected by a MANOVA analysis [ICS: $F(1,17)=6.39$, $P<0.05$; ICS \times SESSION: $F(1,17)=11.29$, $P<0.01$]. In the poor learners, the between-group differences (stimulated vs. control) were observed only in the retention and not during the acquisition period [acquisition: NS; retention: $F(1,17)=9.33$, $P<0.01$]. The increase from the acquisition to the retention was also higher in the rats that received the treatment in comparison to the control rats [$F(1,17)=11.29$, $P<0.01$].

The number of crossings made during the 10 min of adaptation to the apparatus and the intercrossings made during the task were evaluated to rule out the non-mnemonic variable of motor activity as a contributor to the performance. The groups did not differ in the motor activity in any case.

The results of this experiment show that post-training ICS of the NBM improved both the short-(24 h) and long-(11 days) term retention of the two-way active avoidance task, especially in the rats with a low initial learning ability. The ICS of the NBM does not seem to increase the retention in the good-learning rats, probably due to a ceiling effect. These results are similar to those observed in a previous study of our laboratory [6]. In this last experiment, post-training ICS of the parafascicular nucleus (PF) of the thalamus, which is also related to arousal systems, improved memory, depending on initial learning level of the subjects.

Nevertheless, it is difficult to compare present data with previous similar data, since studies with ICS have evaluated mainly the immediated effects of NBM stimulation on sensory cortical neurons and on long-lasting plasticity in the topographic organization of these sensory cortices (for a review see [15]). Those studies do not distinguish well between ICS effects on acquisition and on memory consolidation. However, pharmacological studies support a role of NBM in memory consolidation because post-training administration of several pharmacological agents, when microinjected into the NBM, can improve the retrieval of several learning tasks [9,13].

How does NBM ICS facilitate memory? The ICS parameters employed in the present research were similar to those used in other studies, in which NBM ICS has elicited a great increase in ACh release [16] (and for a review see [15]). Therefore, it could be likely that the increase in cortical ACh enhances thalamocortical synapses, as seen in sensory cortex in most of the pairing studies [15]. However, Rasmusson [15] states that an

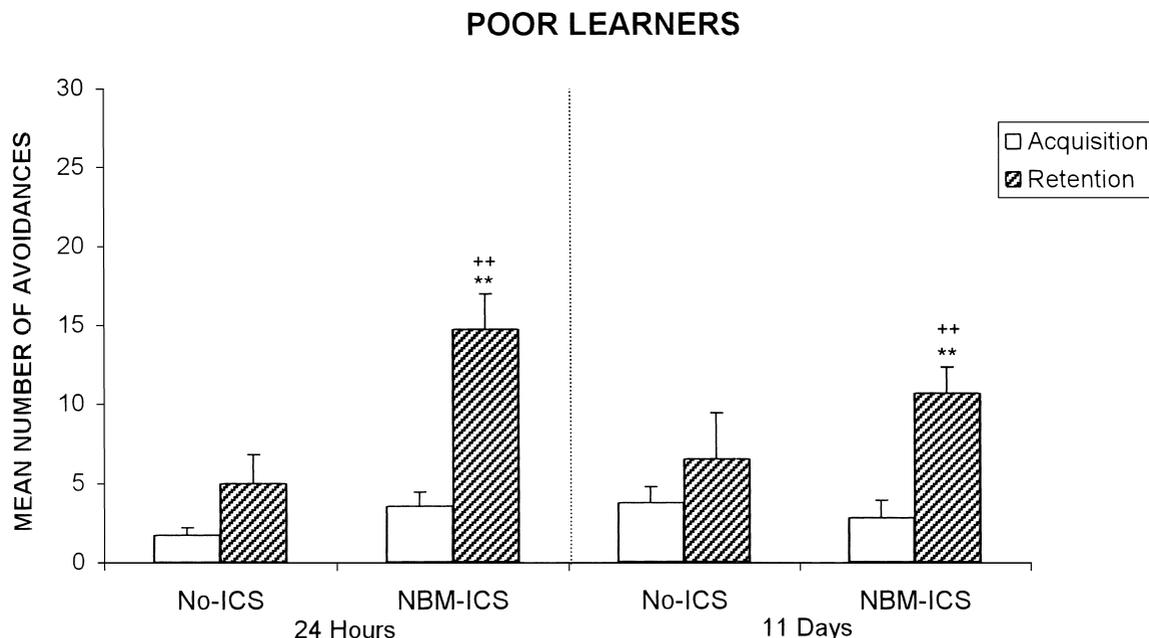


Fig. 4. Mean number of avoidances (+S.E.M.) in the acquisition and retention sessions in the 24-h and 11-day poor-learning groups. ++ $P<0.01$ vs. acquisition; ** $P<0.01$ vs. control.

interpretation of cholinergic function in terms of a simple function, such as sensory enhancement, is probably oversimplistic. If, as suggested by other authors [17], cholinergic NBM neurons have a global role in arousal, NBM ICS effects on memory may be related to an optimal enhancement in cortical activation during active waking, which might facilitate associative and cortical plasticity during consolidation processes. Although the enhancement of cortical ACh is an important factor to explain our results, the possible activation of other corticopetal neurons (probably GABAergic or noradrenergic) may also contribute to them.

Another possibility, which does not exclude the hypothesis of cortical activation, is that NBM ICS may exert its actions by the stimulation of cells that activate the amygdala. There is a large body of evidence showing that post-training activation of the amygdala, especially the basolateral amygdala, which receives dense cholinergic projections from the NBM [12], enhances retention [1,10].

In conclusion, post-training stimulation of the NBM seems to potentiate memory consolidation of a two-way active avoidance task, especially in animals with a low initial learning ability. More experiments are needed to evaluate the effects of NBM ICS on other kind of learning tasks and/or cognitive processes. Further studies may be also necessary to test the use of NBM ICS as a treatment to recover memory loss in experimental models of amnesia (i.e. after brain lesions).

Acknowledgements

This research was supported by a CICYT grant (PM98-0169) and a fellowship to AMP from the Generalitat de Catalunya. We thank Dr. Jill McGaughy for helpful comments on an earlier version of the manuscript.

References

- [1] L. Cahill, J.L. McGaugh, Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory, *Trends Neurosci.* 21 (1998) 294–299.
- [2] L. Détaéri, Tonic and phasic influence of basal forebrain unit activity on the cortical EEG, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 159–170.
- [3] M.A. Dimyan, N.M. Weinberger, Basal forebrain stimulation induces discriminative receptive field plasticity in the auditory cortex, *Behav. Neurosci.* 113 (1999) 691–702.
- [4] H.C. Dringenberg, Alzheimer's disease: more than a "cholinergic disorder" –evidence that cholinergic -monoaminergic interactions contribute to EEG slowing and dementia, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 235–249.
- [5] B.J. Everitt, T.W. Robbins, Central cholinergic systems and cognition, *Ann. Rev. Psychol.* 48 (1997) 649–684.
- [6] G. Guillazo-Blanch, A.M. Vale-Martínez, M. Martí-Nicolovius, M. Coll-Andreu, I. Morgado-Bernal, The parafascicular nucleus and two-way active avoidance: effects of electrical stimulation and electrode implantation, *Exp. Brain Res.* 129 (1999) 605–614.
- [7] M.A. Howard, D.J. Simons, Physiologic effects of nucleus basalis magnocellularis stimulation on rat barrel cortex neurons, *Exp. Brain Res.* 102 (1994) 21–33.
- [8] I.D. Manns, A. Alonso, B.E. Jones, Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats, *J. Neurosci.* 20 (2000) 1505–1518.
- [9] K.I. Mason, P.E. Maelet, K. Jhamandas, R.J. Boegman, R.J. Beninger, Nucleus basalis injections of *N*-methyl-D-aspartate enhance memory of rats in the double Y maze, *Brain Res. Bull.* 48 (1999) 65–71.
- [10] J.L. McGaugh, L. Cahill, B. Roozendaal, Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93 (1996) 13508–13514.
- [11] J. McGaughy, B.J. Everitt, T.W. Robbins, M. Sarter, The role of cortical cholinergic afferent projections in cognition: impact of new selective immunotoxins, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 251–263.
- [12] M.M. Mesulam, Structure and function of cholinergic pathways in the cerebral cortex, limbic system, basal ganglia, and thalamus of the human brain, in: F.E. Bloom, D.J. Kupfer (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, New York, 1995, pp. 135–146.
- [13] J.A. Nagel, J.P. Huston, Enhanced inhibitory avoidance learning produced by post-trial injections of substance P into the basal forebrain, *Behav. Neural Biol.* 49 (1988) 374–385.
- [14] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 3rd ed, Academic Press, San Diego, CA, 1997.
- [15] D.D. Rasmusson, The role of acetylcholine in cortical synaptic plasticity, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 205–218.
- [16] D.D. Rasmusson, K. Clow, J.C. Szerb, Frequency-dependent increase in cortical acetylcholine release evoked by stimulation of the nucleus basalis magnocellularis in the rat, *Brain Res.* 594 (1992) 150–154.
- [17] M. Sarter, J.P. Bruno, Cortical cholinergic inputs mediating arousal, attentional processing and dreaming: differential afferent regulation of the basal forebrain by telencephalic and brainstem afferents, *Neuroscience* 95 (2000) 933–952.
- [18] K. Semba, Multiple output pathways of the basal forebrain: organization, chemical heterogeneity, and roles in vigilance, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 117–141.
- [19] R. Szymusiak, N. Alam, D. McGinty, Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during walking and sleep, *Behav. Brain Res.* 115 (2000) 171–182.
- [20] G.L. Wenk, The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: one hundred years of progress, *Neurobiol. Learn. Mem.* 67 (1997) 85–95.

2. EXPERIMENTO II

2.1. OBJETIVOS Y PROCEDIMIENTO

A pesar de que la participación del NBM en diversos procesos cognitivos es un hecho confirmado, la literatura científica actual no ofrece un panorama claro sobre la específica implicación de este núcleo en funciones como la atención, la adquisición, el almacenamiento de la información y la recuperación de ésta. Mientras diversos autores sugieren que el NBM es crítico en la modulación de los procesos de aprendizaje y consolidación de la memoria (Bailey y col., 2003; Bailey y Thomas, 2001; Berger-Sweeney y col., 2000; Miranda y col., 2003; Power y col., 2003), otros supeditan dichas funciones a su papel en la regulación de la atención (Himmelheber y col., 2001; McGaughy y col., 1996; McGaughy y Sarter, 1998; Sarter y col., 2001, 2003). Además, estudios recientes indican que el NBM parece no participar en los procesos de recuperación de la información ya adquirida (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999).

En este contexto, en el segundo experimento de la presente tesis, nos planteamos investigar los efectos de la EIC del NBM aplicada en diferentes fases del proceso de aprendizaje de la EV2. Concretamente los objetivos planteados en este experimento son los siguientes:

- Evaluar los efectos de la activación del NBM sobre la adquisición de la tarea de EV2, aplicando la estimulación inmediatamente antes de la primera sesión de entrenamiento (*pre-adquisición*).
- Evaluar los efectos de la EIC sobre la retención a las 24 y a las 48 horas después de la primera sesión, administrando el tratamiento inmediatamente después la sesión de adquisición (*post-adquisición*).
- Evaluar los efectos del tratamiento sobre la recuperación de la información adquirida administrando la EIC inmediatamente antes de la sesión de retención de las 24 horas (*pre-retención 24h*).
- Estudiar si los cambios en determinados parámetros del tratamiento de EIC (aumento de la intensidad y la duración), respecto al primer trabajo publicado, potencia los efectos facilitadores.

Para llevar a cabo los objetivos planteados, los sujetos fueron asignados aleatoriamente a los grupos experimentales expuestos en la siguiente tabla, junto con la distribución de la muestra:

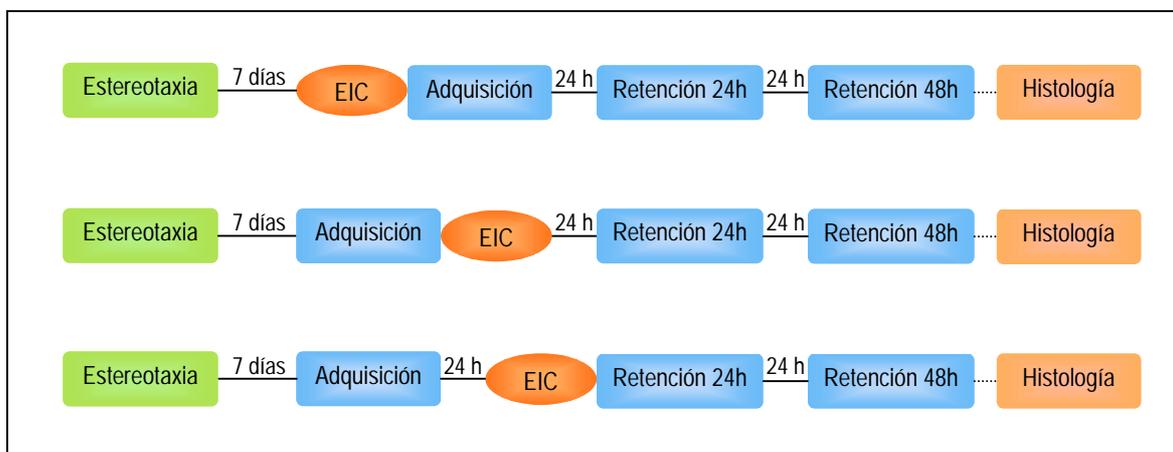
	Pre-adquisición (<i>Preacquisition ICS</i>)	Post-adquisición (<i>Postacquisition ICS</i>)	Pre-retención 24h (<i>Preretention 24-H ICS</i>)
Control (<i>Control</i>)	7	12	8
EIC-NBM (<i>NBM-ICS</i>)	6	20	12

El procedimiento seguido en este trabajo consistió en una primera sesión de 30 ensayos de condicionamiento de EV2 (*sesión de adquisición*), seguida por dos sesiones de retención a las 24 o a las 48 horas de esa primera sesión (*sesión de retención 24 horas* y *sesión de retención 48 horas*, respectivamente). Dado que las sesiones de retención son idénticas a la de adquisición, es difícil discernir entre reaprendizaje y retención propiamente dicha. En este sentido, consideramos que la ejecución mostrada por los sujetos en el primer bloque de diez ensayos de la primera sesión de retención es la que proporciona mayor información sobre la retención ya que refleja el nivel de recuerdo que los sujetos mantienen de lo aprendido en la sesión anterior.

El tratamiento de EIC del NBM se llevó a cabo justo antes de la primera sesión (*pre-adquisición*), inmediatamente después de ésta (*post-adquisición*) o justo antes de la primera sesión de retención (*pre-retención 24h*), en función del grupo al que perteneciesen los sujetos. Los parámetros de la corriente eléctrica utilizada, en cuanto a frecuencia y duración de trenes y pulsos eléctricos, fueron idénticos a los utilizados en el trabajo previo, en cambio, la intensidad de estimulación se aumentó a 100 μ A y el tiempo del tratamiento a 30 o a 45 minutos. El objetivo de estas modificaciones fue intentar potenciar la facilitación observada en el primer experimento, ya que diversos estudios han mostrado que efectos como el porcentaje de aumento en la liberación de ACh cortical, del flujo sanguíneo o el incremento en los potenciales evocados, pueden depender de parámetros de estimulación como la duración, la intensidad o la frecuencia de la corriente eléctrica (Edeline y col., 1994a; Rasmusson, 2000; Sato y col., 2002). Los sujetos de cada uno de los grupos experimentales fueron distribuidos aleatoriamente en cada una de estas dos condiciones (30 minutos de EIC o 45 minutos de EIC).

De la misma manera que en el procedimiento seguido en el primer trabajo, los sujetos de los grupos Control fueron situados en la jaula de EIC, en este caso, durante 30 o 45 minutos con el electrodo conectado pero sin recibir estimulación.

En el siguiente esquema se resume el procedimiento seguido con cada uno de los grupos (*EIC pre-adquisición*, *EIC post-adquisición* y *EIC pre-retención 24h*, respectivamente):



2.2. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Los principales resultados obtenidos en este experimento son los siguientes:

- La EIC del NBM aplicada antes de la primera sesión de entrenamiento mejora significativamente la adquisición de la tarea de EV2, sin afectar las posteriores sesiones de retención.
- La estimulación aplicada inmediatamente después de la sesión de adquisición dificulta ligeramente la ejecución a las 24 horas, pero no a las 48 horas, cuando el tratamiento es aplicado durante 45 minutos.
- La estimulación del NBM antes de la primera sesión de retención no provoca ningún efecto en la ejecución en ninguna de las dos sesiones de retención.

Los análisis estadísticos realizados indican que ninguno de estos resultados puede ser atribuido a variables como la actividad locomotriz durante las sesiones de entrenamiento o las latencias de evitación y de huida del *shock* eléctrico.

En definitiva, estos resultados sugieren que la activación del NBM parece contribuir principalmente en los estadios iniciales del procesamiento de la información (codificación y/o mantenimiento de la información) más que en fases posteriores (consolidación o recuperación de la información). La facilitación observada en la

adquisición puede ser explicada por un aumento en los procesos y capacidades de atención, es decir, en la capacidad de detectar y seleccionar aquellos estímulos significativos de la situación de aprendizaje discriminándolos de los irrelevantes, procesos en los que el NBM y, fundamentalmente el sistema colinérgico, se hallan implicados (Sarter y col., 2003). La ausencia de efectos en la recuperación de la información, resultado también obtenido en otros trabajos (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Walsh y col., 1998), supone un dato a favor de la hipótesis según la cual el NBM participa en los primeros estadios del aprendizaje siendo menos crítico cuando la tarea ya ha sido adquirida y, en consecuencia, los procesos atencionales se hallan implicados en menor medida (Miranda y col., 2003; Orsetti y col., 1996). Por otro lado, en el presente experimento, a diferencia del anterior, no se ha observado un efecto facilitador de la EIC post-adquisición sobre la retención, sino más bien un deterioro en la ejecución cuando se aplicó el tiempo máximo de estimulación (45 minutos). Esta diferencia podría ser explicada por el cambio en los parámetros de EIC, lo que sugiere que el período en el que tiene lugar la consolidación de la memoria parece mostrarse más sensible a cambios en los parámetros del tratamiento de estimulación en comparación a los períodos de codificación o de recuperación de la información.

2.3. PRESENTACIÓN DEL TRABAJO

Montero-Pastor, A. Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G. & Martí-Nicolovius, M. (2004). Effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-way active avoidance acquisition, retention, and retrieval. *Behavioural Brain Research*, (en prensa).



Research report

Effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-way active avoidance acquisition, retention, and retrieval

Ana Montero-Pastor, Anna Vale-Martínez, Gemma Guillazo-Blanch,
Margarita Martí-Nicolovius*

*Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut, Institut de Neurociències,
Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain*

Received 5 August 2003; received in revised form 15 January 2004; accepted 15 January 2004

Abstract

This study assessed the role of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) in specific memory phases of two-way active avoidance conditioning. We evaluated the effects of NBM electrical stimulation applied during different phases of the avoidance task. Rats were trained in a 30-trial acquisition session, and were tested again 24 and 48 h later. NBM stimulation was applied at different stages of memory formation of the conditioning: (1) immediately before the first training session to determine the effects on acquisition of the two-way avoidance task; (2) immediately after the first training session to evaluate effects on memory consolidation; and (3) immediately before the 24-h retention session to analyze the effects on the retrieval process. NBM stimulation before training significantly improved the acquisition of the task, without affecting subsequent retention at either 24 or 48 h. Stimulation of the NBM immediately after the first training session slightly impaired performance in the 24-h retention session. Stimulation of the NBM immediately before the 24-h retention session did not affect performance in either the 24 or 48-h retention sessions. Therefore, the NBM may play a more important role in acquisition of memory in aversively motivated conditioning tasks than in consolidation or retrieval of such memories. These results are discussed in the context of attention enhancement and cortical and amygdala activation.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Attention; Aversive memories; Memory modulation

1. Introduction

Extensive behavioral studies have investigated the role of the nucleus basalis magnocellularis (NBM), and mainly its cholinergic projections to neocortex [25,95,116] and amygdala [84,85], on cognitive functions. Support for the involvement of NBM cholinergic neurons in cognitive processes has come from studies examining the effects of selective cholinergic lesions, pharmacological manipulations, and/or in vivo microdialysis. Those studies have examined a variety of behavioral tasks that measure attention or different stages of the learning process, i.e. acquisition, memory consolidation and retrieval, showing that cholinergic efflux in cortex and/or amygdala exhibits specific relationships with phases of cognitive processes [54,59,68,98]. Recent studies of acetylcholine (ACh) release obtained in vivo during training, together with injections of cholinergic drugs into dif-

ferent neural systems, provide evidence that release of ACh is important in engaging these systems during learning and memory formation [30]. Collectively, results from those investigations have highlighted a clear relationship between NBM cholinergic projections and cognitive performance.

Converging evidence from several studies supports an important role for NBM cholinergic system in attentional function [113]. Selective lesions of NBM cortical cholinergic neurons disrupt the performance of animals in tasks that tax different aspects of attention [5,11,17, for review see 98]. In a 5-choice serial reaction time task, recent studies have reported that extensive cholinergic lesions of the NBM induce severe deficits in some parameters, for example, impaired accuracy [49,55], significant increases in omissions especially when difficulty of signal detection is increased [94], increased latencies to respond correctly and disrupted pattern of response control [49]. In an operant task that measure sustained visual attention performance, decreases in the detection of brief and unpredictable visual signals have been demonstrated [28]. Furthermore, neuropharmacological manipulations, which affect the excitability of NBM

* Corresponding author. Tel.: +34-93-581-2808; fax: +34-93-581-2001.
E-mail address: margarita.marti@uab.es (M. Martí-Nicolovius).

corticopetal cholinergic projections, produce changes in attentional performance [41,56,105,106]. In vivo microdialysis studies have demonstrated a systematic link between indices of cholinergic function and attention performance [2,38,39,55]. Recently [55], it has been shown that selective cholinergic lesions in NBM produced dose-dependent effects on attentional accuracy that correlated significantly with cholinergic NBM cell loss and with reductions in cortical ACh efflux. Altogether suggests that there is a relationship between altered cortical ACh efflux induced by cholinergic damage in NBM and/or pharmacological manipulations and impaired attentional function.

Besides the obvious involvement of attentional processes in learning and memory performance, alterations in NBM cholinergic function can directly influence the acquisition and retention of several tasks. In that respect, pretraining cholinergic NBM lesions prevent learning of numerous tasks in rats and nonhuman primates, such as social transmission of food preference [6,107], visual discrimination [26,92,93], learning set formation [3], configural association learning [12,13], motor skill learning [18], or spatial tasks when the lesions also included the medial septum [83]. Posttraining manipulations (which can avoid confounding effects on acquisition or retention) that modulate ACh release affect memory consolidation [46,107, for review see 87]. For instance, cholinergic NBM lesions impair retention of several tasks, i.e. radial maze working memory task [115], or matching- and nonmatching-to-sample task [104], whereas neuropharmacological treatments that increase ACh efflux improve retention performance in behavioral paradigms such as avoidance tasks [34,88], or place recognition task [79]. On the other hand, recent findings indicate that NBM cholinergic projections to basolateral amygdala are also involved in memory consolidation especially in aversive memories [85,86]. The contribution of the NBM cholinergic system in learning and memory processes has been investigated as well with regard to retrieval. Excitotoxic lesions or reversible inactivation of the NBM impaired acquisition but not retrieval of several tasks, such as conditioned taste aversion [32,68], and spatial learning tasks [32,110]. As for cholinergic activity in the cortex, there have been found increases immediately after acquisition of several tasks, persisting for several minutes after learning [68,77,78]. However, cholinergic efflux decreases gradually after consecutive learning sessions [32,68,70]. Collectively, these findings suggest that NBM cholinergic pathways participate in acquisition and memory consolidation, that is to say, ACh elevations seem necessary to acquire and accurately associate new items as well as their consolidation, mainly given behavioral situations that may require behavioral flexibility. However, NBM cholinergic projections do not contribute substantially to recovery of information previously learned [32,68].

There are some suggestions about how NBM and ACh can modulate cognitive processes. Cholinergic NBM projections regulate cortical activity [20,22,50,102] and induce cortical plasticity [4,10,21,24,43,44,66,109], both neural mech-

anisms related to learning and memory processes [25,40]. Regarding cortical activation, lesions of the cholinergic neurons of NBM result in a significant reduction of electroencephalographic (EEG) activity [9], whereas NBM electrical stimulation produces both EEG cortical desynchronization [4,10,24,31,60,61,62,64,65] and increases in ACh release in the neocortex [14,16,42,47,48,61,65,90,91]. Activation of NBM by electrical stimulation may provide spatial and temporal characteristics of ACh release that are consistent with the normal anatomy and physiology of the NBM cholinergic system [89]. Nevertheless, there are only few studies [60,62] that have evaluated the effects of NBM stimulation on behavioral memory.

As far as we know, there has not been any study that has examined the activation of NBM across the multiple phases of learning. Therefore, in the present research we sought to investigate the effects of NBM electrical stimulation during different stages of learning of a two-way active avoidance conditioning. We used active avoidance in order to determine whether the activation of NBM could be involved in aversive memories in general, as showed in preceding lesion studies [32,68,85,108], and because this task has been shown to be sensitive to NBM stimulation [71]. The parameters used in the present research were similar to those used in other studies in which NBM stimulation has elicited great increases in ACh release [89,90], cortical EEG activation [31,61,62] via muscarinic receptors [65], and cortical cerebral blood flow increases [100,101]. In the current study, NBM stimulation treatment was applied at different moments of conditioning: (a) immediately before the first training session, to evaluate the effects of the activation of the NBM on the acquisition of the two-way active avoidance task (Experiment 1); (b) immediately after the first training session, testing the animals' performance on two retention sessions (24 and 48 h after the acquisition session), to determine the effects of stimulation of the NBM on memory consolidation and relearning (Experiment 2); (c) immediately before the 24-h retention session, to analyze the effects of NBM stimulation on retrieval, when the task-relevant information may be already stored (Experiment 3). Taking into account that NBM seems to be more critical for acquisition and consolidation processes than retrieval, we expect that activation of the NBM will enhance acquisition (Experiment 1) and consolidation (Experiment 2), but not retrieval of two-way active avoidance (Experiment 3).

2. Material and methods

2.1. Subjects

The subjects were 90 male Wistar rats, obtained from our laboratory breeding stock, with a mean age of 97.63 days (S.D. = 5.52) and a mean weight of 444.18 g (S.D. = 36.52) at the beginning of experiments. All rats were housed singly and kept under conditions of controlled temperature

(20–23 °C) and humidity (40–70%), maintained on a 12-h light–dark cycle (lights on at 8:00 a.m.). Surgery and behavioral testing were performed during the first half of the light cycle. Food and water were available ad libitum. Experiments were carried out in accordance with the European Community Council Directive for care and use of laboratory animals (86/609/EEC) and with the Generalitat de Catalunya (DOGC 2073 10/7/1995, DARP protocol number 2120).

2.2. Stereotaxic surgery

The day before surgery, the rats were handled for approximately 5 min, and randomly assigned to stimulated and control groups in the three experiments. Stereotaxic surgery (Model 1504, David Kopf Instruments, Tujunga, CA) was carried out under general anesthesia with i.p. Ketamine hydrochloride (Ketolar, 90 mg/kg; Parke-Davis, Madrid, Spain) and xylazine (Rompun, 8 mg/kg; Bayer, Química Farmacéutica, Barcelona, Spain). All the rats were implanted with a monopolar stainless-steel electrode (electrically insulated except at their tips) (Plastics One, Bilaney, Düsseldorf, Germany; 150 μ m in diameter) aimed at the NBM, with the incisor bar set at -2.7 mm below the interaural line, and according to the following stereotaxic coordinates—AP: -1.30 mm from bregma; L: $+2.8$ mm from midline, and DV: -7.6 mm from cranium surface [82] in the right hemisphere. The electrodes were soldered to a plastic connector that was anchored to the skull with jeweller's screws and dental cement (Vertex self-curing, Dentimex, Zeist, Holland). The grounding electrode was a copper wire (200 μ m in diameter), with one end soldered to the electrode connector and the other end to a screw. Rats in control groups were implanted in the NBM but without grounding electrode. After surgery, the incision was cleaned and sutured, after which rats were returned to their home cages and allowed 1 week for recovery before behavioral testing.

2.3. Procedure

2.3.1. Acquisition session

Following surgical recovery, animals were trained in a massed session (30 trials) of a two-way active avoidance task. Active avoidance testing was conducted in a 50 cm \times 24 cm \times 25 cm two-way automated shuttle-box (Letica LI-916, Panlab, S.A., Barcelona, Spain), enclosed in a sound-attenuating box ventilated by an extractor fan. A fluorescent bulb located on the sound-attenuating box illuminated the conditioning box. The two compartment floors (without any physical separation between them) were independently electrifiable and constructed of stainless-steel bars (3.9 mm in diameter with a distance between them of 8.8 mm), which formed a shock grid. The conditioned stimulus (CS) was a 60-dB and 1-kHz tone of 3 s duration. The unconditioned stimulus (US) was a 0.5-mA scrambled electrical foot shock, presented for 15 s at maximum. The current supplied by the shock generator was a positive semi

wave of 100 Hz frequency. The conditioning procedure was a short-delay paradigm, in which the US was presented immediately after the end of the CS. The trials followed a variable intertrial interval ranging from 50 to 70 s. The shuttle-box was connected to a computer that controlled the training schedule and scored avoidance responses (considered as the level of performance of the task), escape responses, response and escape latencies, and intertrial crossings (considered as an index of locomotor activity).

The two-way active avoidance paradigm employed in these experiments is a standard version of the task that is considered to measure nondeclarative memory [103]. In the two-way active avoidance task, the rats have to learn the association between an aversive US and a CS that precedes the US. Besides the discrete, explicit cue (tone), the context (the two compartments of the shuttle-box) is associated with the US. In this task, two components are required, a classical fear conditioning and an instrumental response, because the rat has to alternate from one compartment of the shuttle-box to the other one to avoid the shock (avoidance response) [67,73].

2.3.2. Retention sessions

All the rats received two additional (30 trials) avoidance sessions, 24 and 48 h after the acquisition. We can consider that the first trials of these sessions provide information about retention. However, the last trials of retention sessions could essentially inform of relearning because these sessions were identical to acquisition.

2.3.3. Intracranial electrical stimulation (ICS) treatment

The treatment was applied in a stimulation cage (26.5 cm \times 30.5 cm \times 36 cm) constructed of Plexiglas. The electrical current delivered by a stimulator (Model CS-20, Cibertec, Madrid, Spain) consisted of square pulse trains with a frequency of 1 Hz and train duration of 500 ms. Each train consisted of 50 pulses of 0.5 ms duration each. In a previous study [71], the rats were stimulated in the NBM for 20 min with a current intensity of 60–90 μ A, which improved retention of active avoidance, mostly in rats with an initial low learning ability. Several studies have reported that increase in ACh release, cerebral cortical blood flow or stimulus-evoked responses of cortical neurons depend on stimulation parameters such as duration, intensity or frequency [24,89,101]. Therefore, to obtain stronger effects on the conditioning, in the present experiments we raised both current intensity (100 μ A) and treatment duration (30 or 45 min).

The rats of the NBM–ICS groups were placed in the stimulation cage and the ICS treatment was applied immediately before the acquisition session (Experiment 1), immediately after the acquisition (Experiment 2) or immediately before the 24-h retention session (Experiment 3). Control rats of each experiment were placed in the same cage, for 30 or 45 min, with the electrode clip connected but they never received the ICS treatment.

2.4. Histology

At the end of the experiments, histological analyses were performed to verify the location of the electrode tips. All the rats were anaesthetized (i.p.) with an overdose of sodium pentobarbital (Dolethal, 200 mg/kg; Vetoquinol S.A., Madrid, Spain) and were perfused transcardially with 100 ml 0.1 M phosphate-buffered saline followed by 250 ml 4% paraformaldehyde at a flow rate of 43 ml/min. Brains were removed and postfixed in 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate-buffered saline for 2 h and then were placed for 48–96 h in a solution of 20% sucrose in phosphate-buffered saline. Brains were sectioned proximal to the electrode placements with a cryostat (Reichert-Jung, Cryocut 1800 with microtome 2020, Heidelberg, Germany) at 40 μ m thickness. The sections were processed for acetylcholinesterase (AChE) histochemistry, essentially as described elsewhere [82]. The sections were examined under a microscope (Leica CME, Barcelona, Spain) and photomicrographs were taken (Polaroid DMC, Polaroid Corp., Cambridge, MA, USA). Examination of the tissue was done using a blind strategy: two observers who were not aware of the behavioral results independently examined the brain sections.

2.5. Data analyses

The main analyses were performed by means of ANOVA analyses (SPSS v11 software, Iberica, Madrid, Spain), in which the independent variables were considered to be categorical: Group and Stimulation duration, and the dependent variables to be quantitative (repeated measures: Avoidances, Locomotor Activity and Latencies in each session). Mixed ANOVAs were performed with their corresponding contrast analyses for between- and within-group effects. Separate analyses were done to study the evolution of performance across three blocks of 10 consecutive trials for each session. In Experiment 1, a survival analysis was also carried out to analyze the mean number of trials required by each group to reach a pre-established learning criterion (five consecutive avoidances). Survival analysis is a statistical method for studying the time to the occurrence of a particular event. We used the Kaplan–Meier procedure for estimating a survival function for each group in the form of a step function, and the statistical Breslow to obtain a *P*-value [45,81].

3. Results

3.1. Histology

Histological analyses showed that the electrode placements for all rats ranged from 0.80 to 2.12 mm posterior to bregma according to the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [82]. We only considered for the final sample rats with their electrode tips within the area demarcated by cau-

dal globus pallidus, substantia innominata and adjacent internal capsula (Fig. 1A). These sites are consistent with the well-known location of the NBM neurons that project to the cortex [63,116], the stimulation of which induces cortical EEG desynchronization [61,62,65]. Our stimulating electrodes were located within regions recently shown to have high concentration of cortically projecting cholinergic cells [116]. Fig. 1C shows a representative photomicrograph of a coronal section of the NBM stained for AChE histochemistry showing the electrode track.

Subjects that had the electrode unintentionally implanted outside the NBM area were excluded from behavioral data analyses, and these subjects had the electrodes tips located mainly in the caudate-putamen, internal capsule and lateral hypothalamus. Thus, the final sample was composed of 65 rats, with the electrode tracks located along different brain coordinates from 0.92 to 1.80 mm posterior to bregma (Fig. 1A), and distributed on the following groups: Experiment 1 (CONTROL = 7, NBM-ICS = 6), Experiment 2 (CONTROL = 12, NBM-ICS = 20), and Experiment 3 (CONTROL = 8, NBM-ICS = 12).

3.2. Behavioral testing

3.2.1. Experiment 1

The aim of this experiment was to study the effect of NBM-ICS applied immediately before the first training session on two-way avoidance acquisition. Statistical analyses did not show differences with regard to the duration variable (30 min versus 45 min) in the stimulated or control rats in any training session (ANOVA, all *F*-values <3, all *P*-values >0.09). Therefore, we combined all data and two groups were considered for the rest of the analyses: NBM-ICS and CONTROL groups.

Fig. 2A depicts the mean number of avoidances in the acquisition and in the retention sessions. As shown in this figure, the NBM-ICS group shows a higher number of avoidance responses than the CONTROL group on the acquisition session, i.e., immediately after stimulation. The mixed ANOVA showed that the GROUP factor ($F(1, 11) = 6.338$, $P = 0.029$) and the SESSION factor ($F(2, 22) = 51.750$, $P < 0.001$) were significant. The significant GROUP by SESSION interaction ($F(2, 22) = 8.157$, $P = 0.002$) indicated differences between groups depending on the session evaluated. Specifically, in the acquisition session, the NBM-ICS group showed significantly more avoidance responses ($M = 16.83 \pm 3.76$) than the CONTROL group (7.71 ± 5.47) ($F(1, 11) = 11.809$, $P = 0.006$). Thus, the ICS treatment had a differential effect on acquisition performance versus the subsequent sessions of conditioning.

To study the evolution of performance throughout conditioning, we also analyzed each session (30 trials) as composed by three blocks of 10 consecutive trials. As shown in Fig. 2B, there are significant differences between the NBM-ICS group and the CONTROL group in the evolution across blocks in the acquisition session, but not in

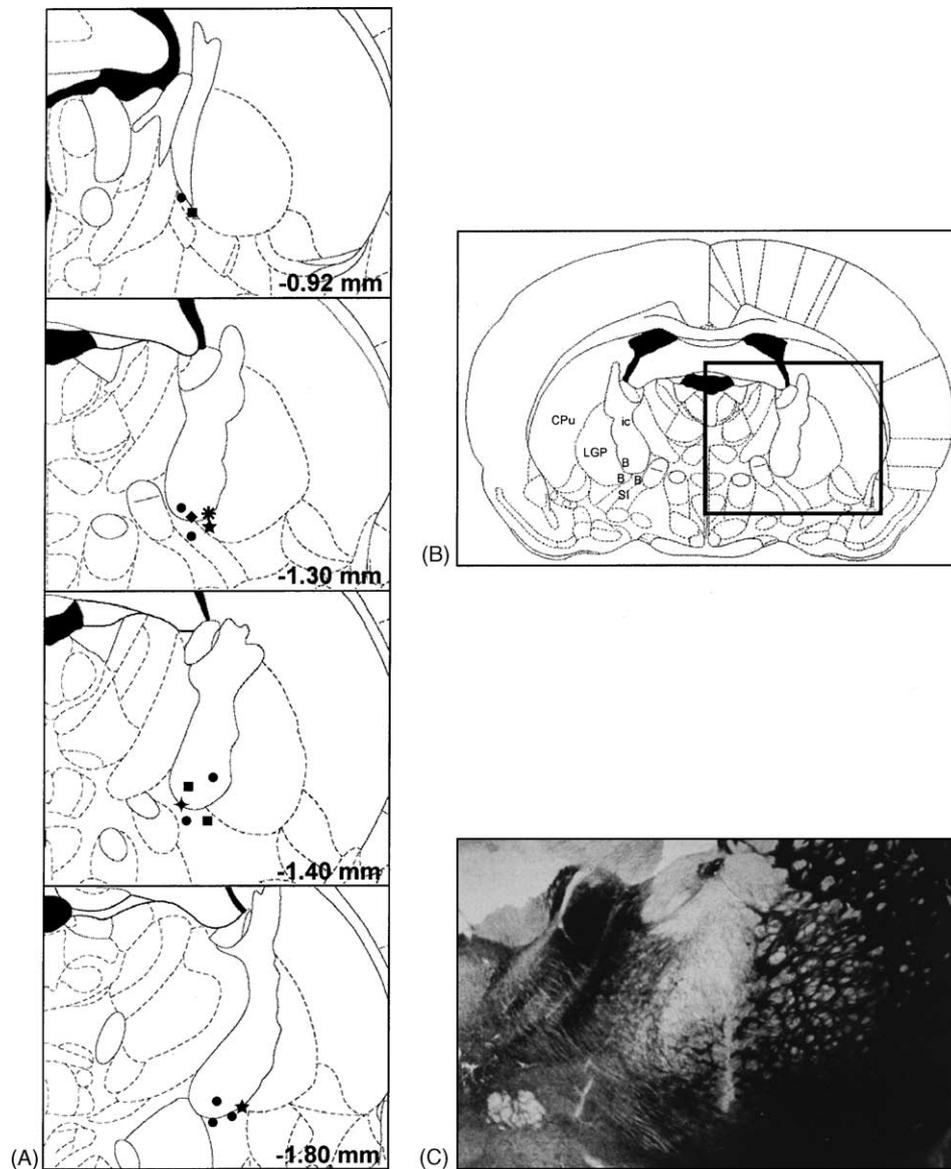


Fig. 1. (A) Electrode tip placements for stimulated and control rats throughout the rostral-caudal extent of the NBM (from 0.92 to 1.80 mm posterior to bregma). Reprinted from *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 3rd ed., G. Paxinos and C. Watson, Figures 22–25, Copyright (1997), with permission from Elsevier Science. Each symbol refers to the number of animals with the electrode tip placed at the site indicated in the section (●, $n = 1$; ■, $n = 2$; ★, $n = 4$; ◆, $n = 5$; ▲, $n = 8$; ✱, $n = 9$; ◆, $n = 13$). (B) Representation of the section 1.30 mm posterior to bregma plate in the Paxinos & Watson (1997) atlas. The marked area indicates approximately the area shown in each representation of A, and the area showed in C. B: nucleus basalis magnocellularis; Cpu: caudate-putamen; ic: internal capsule; LGP: lateral globus pallidus; SI: substantia innominata. (C) Photomicrograph of a coronal section of the NBM stained for AChE histochemistry, showing the electrode location (1.30 mm posterior to bregma) (magnification 30 \times).

the other sessions. The mixed ANOVA revealed significant differences among groups depending on the specific block (GROUP: $F(1, 11) = 6.338$, $P = 0.029$; BLOCK by GROUP: $F(8, 88) = 3.053$, $P = 0.004$). Specifically, a contrast analysis showed that the improvement observed in the acquisition session was confined to the last two blocks of this session (BLOCK2: $F(1, 11) = 17.662$, $P = 0.001$; BLOCK3: $F(1, 11) = 5.246$, $P = 0.043$). This analysis of learning evolution showed that the effects of NBM activation on the acquisition of the task are progressive, since the improvement in avoidances does not start until the second

10-trial block of the acquisition. Nevertheless, the facilitation observed was not maintained in subsequent retention sessions, 24 or 48 h after the acquisition session. Stimulated and control rats showed similar performance across all the retention blocks, denoting that the treatment did not further improve the task.

Differences between groups in the acquisition session were also confirmed by a survival analysis, which pointed out significant differences between NBM-ICS and CONTROL groups in the number of avoidances needed to achieve a pre-established learning criterion: Breslow, $\chi^2(1, n = 13)$

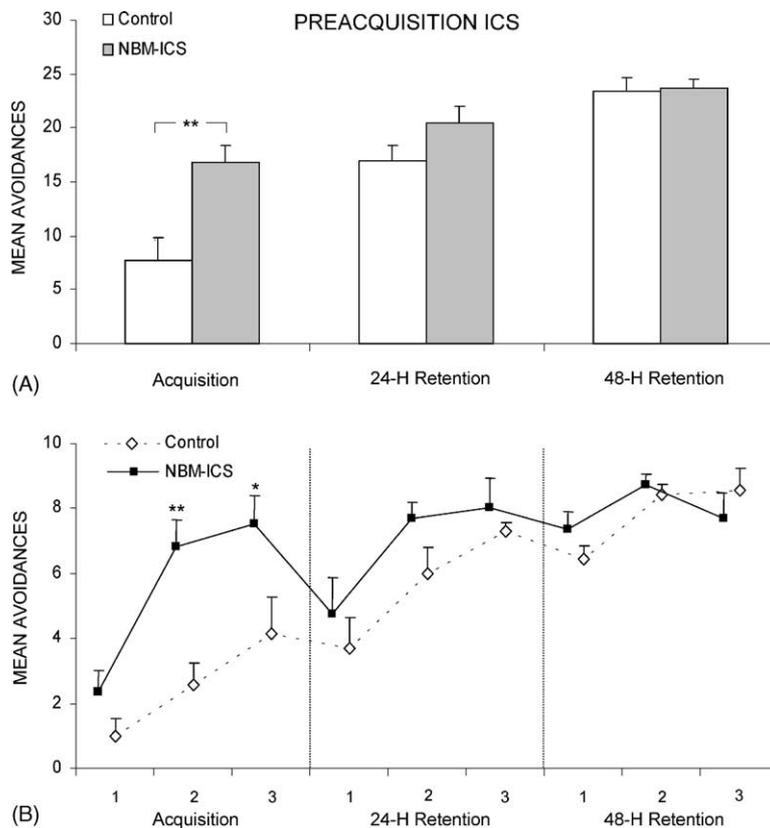


Fig. 2. Effects of preacquisition NBM-ICS treatment on two-way active avoidance conditioning (Experiment 1). (A) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in the three training sessions. The stimulated rats (NBM-ICS group) showed significantly more avoidance responses in the acquisition session than the control rats. (B) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in each 10-trial block of the acquisition, 24-h retention, and 48-h retention. The NBM-ICS group showed significantly more avoidances than the control group in blocks 2 and 3 of the acquisition session. (** $P \leq 0.001$; * $P < 0.05$).

= 9.72, $P = 0.002$. Kaplan–Meier survival curve depicted in Fig. 3 shows the cumulative proportion of subjects, for each trial, that have not reached the criterion yet. As can be seen, 100% of stimulated rats (NBM-ICS group) achieved the learning criterion during the acquisition session whereas CONTROL rats achieved it on the last retention session.

Finally, the number of intercrossings made during the task was evaluated to rule out the nonmnemonic variable of motor activity as a contributor to performance. No statistically significant differences among the groups were detected in the number of intertrial crossings on acquisition or retention sessions (ANOVA, all F -values < 2 , all P -values > 0.1). Moreover, the groups did not differ either with regard to avoidance or escape latencies (ANOVA, all F -values < 2 , all P -values > 0.1).

3.2.1.1. Comments Experiment 1. The results of Experiment 1 show that preacquisition electrical stimulation of the NBM significantly improved the acquisition of the two-way active avoidance task. The facilitative effect on acquisition was also pointed out by the fact that the ICS treatment reduced the number of trials needed to reach a learning criterion (five consecutive avoidances). Thus, all the rats stimulated in the NBM reached the criterion during the first training session, whereas the control rats achieved it on

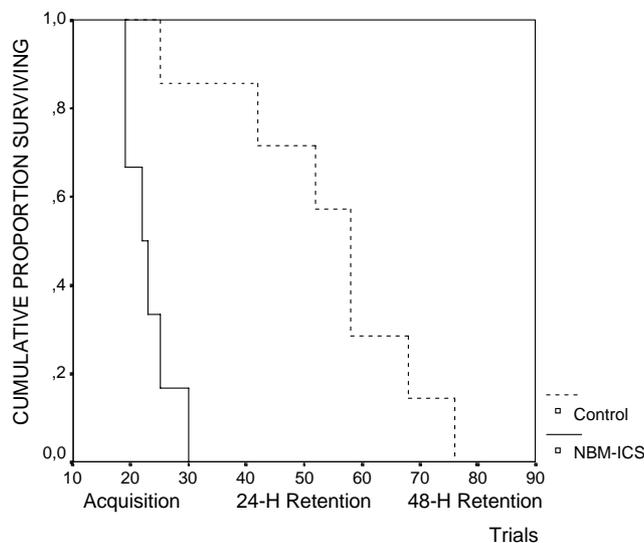


Fig. 3. Kaplan–Meier survival step function representing on the horizontal axis the three 10-trial blocks for each session and on the vertical axis the cumulative proportion of subjects that have not achieved yet the learning criterion (five consecutive avoidances) in Experiment 1. Hundred percent of the stimulated rats achieved the learning criterion in the acquisition session, whereas control rats reached it only in the 48-h retention session.

the last training session. Hence, the ICS effect could lie in an acceleration of the learning process, i.e., decreasing the time or the number of trials needed to reach an asymptotic learning level.

Since many processes other than learning and memory affect behavior, for example motivation or sensorimotor function [15], these factors could account for the facilitation in acquisition of active avoidance. Regarding motivation, the escape latencies after the stimulation of the NBM were similar to those in control rats. In agreement with that, several studies showed that NBM manipulations did not affect shock sensitivity [27,75]. Concerning motor activity, there were not differences among groups regarding intercrossings. Therefore, enhancement of acquisition after NBM stimulation does not seem to be a consequence of nonspecific effects, such as changes in the pain threshold or in sensorimotor function, instead it could have been influenced by attentional processes (see Section 4). The NBM ICS parameters used in the present research were similar to those that elicited great increases in ACh release [89,90], cortical EEG activation [31,61,62] as well as cortical plasticity [4,10,21,43,66], all of them physiological events that have

been closely linked to modulation of attentional and learning processes [28,98,112].

3.2.2. Experiment 2

The aim of this experiment was to study the effect of NBM–ICS applied immediately after the acquisition session on memory consolidation. All control rats were combined together into a single group because no significant differences regarding the duration variable (30 min versus 45 min) were found (ANOVA, all F -values <2 , all P -values >0.1). In contrast, NBM stimulated rats showed significant statistical differences with regard to the duration of the treatment on the evolution of learning (see below). Therefore, two groups of stimulated animals were considered for the main analyses: NBM–ICS 30 min ($n = 9$) and NBM–ICS 45 min ($n = 11$).

Fig. 4A depicts the mean number of avoidances in the acquisition and in the retention sessions. As can be observed in this figure, the NBM–ICS 45 min group showed a transient decrease in the number of avoidances in the 24-h retention session (10.55 ± 7.39) compared to the other groups (NBM–ICS 30 min: 15.33 ± 7.18 ; CONTROL: 15.33 ± 4.85). The mixed ANOVA showed that the SESSION factor was

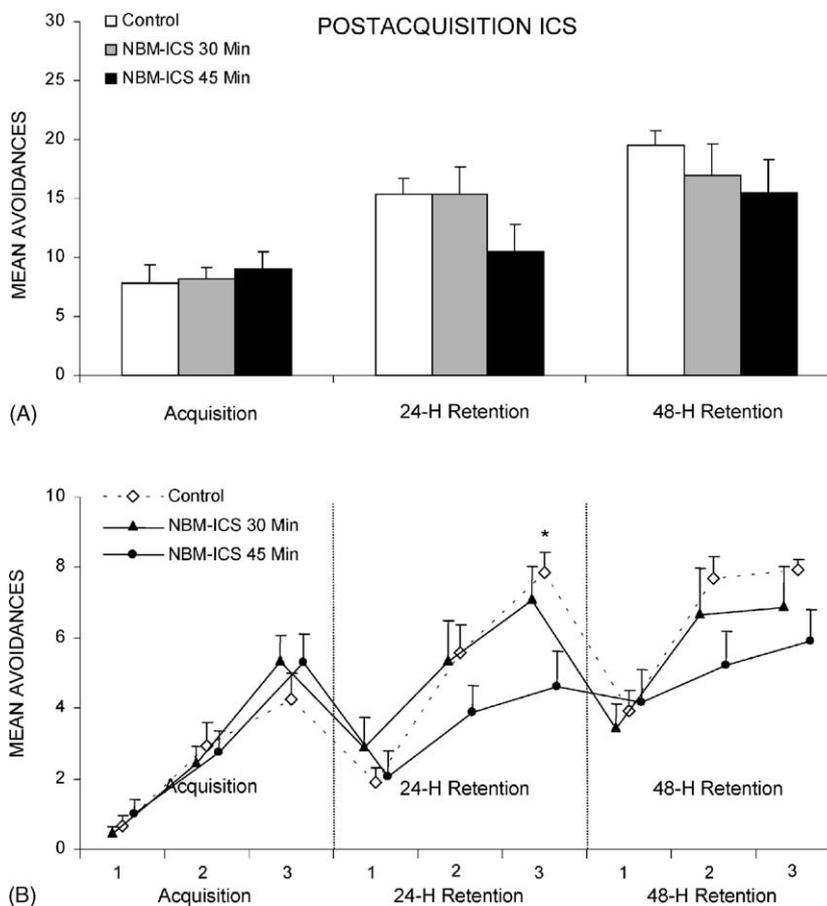


Fig. 4. Effects of the postacquisition NBM–ICS treatment on two-way active avoidance conditioning (Experiment 2). (A) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in the three sessions shown by the subjects stimulated for 30 min, for 45 min, and control subjects. (B) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in each 10-trial block of the acquisition, 24-h retention, and 48-h retention. The group stimulated for 45 min showed significantly fewer avoidances than the control group in block 3 of the 24-h retention session ($*P < 0.05$).

significant ($F(2, 58) = 35.375$, $P < 0.001$), and the interaction GROUP by SESSION tended towards significance ($F(4, 58) = 2.090$, $P = 0.094$). The observed performance decrease in the NBM–ICS 45 min group during the 24-h retention session was confirmed in the analysis of the evolution of performance, considering each session as composed by three blocks of 10 consecutive trials. As shown in Fig. 4B, the evolution across the blocks in the NBM–ICS 45 min group was different from the CONTROL group. The mixed ANOVA analysis revealed that whereas the GROUP factor was not significant ($F(2, 29) = 0.740$, $P > 0.4$) statistical differences in the BLOCK factor ($F(8, 232) = 40.953$, $P < 0.001$) and in the interaction BLOCK by GROUP factors ($F(16, 232) = 1.986$, $P = 0.015$) were found. Thus, differences among groups were dependent on the specific block. Specifically, the NBM–ICS 45 min group showed significantly fewer avoidances (4.64 ± 3.53) than the control group (7.83 ± 2.04) in the last block of trials (21–30) of the 24-h retention session (BLOCK3 24-h RETENTION: $F(1, 232) = 6.917$, $P = 0.018$).

The differences in number of avoidances (increases) between the successive conditioning sessions were also studied. Fig. 5 shows the increment in mean avoidances from acquisition to 24-h retention sessions, and from 24 to 48-h retention sessions. Although all groups increased between sessions, CONTROL and NBM–ICS 30 min groups increased mainly from acquisition to 24-h retention session, whereas the NBM–ICS 45 min group increased most between the last two retention sessions. The interaction INCREASE by GROUP factor confirmed that the increases were different among groups ($F(2, 29) = 3.421$, $P = 0.046$). As was expected, a contrast analysis showed that the NBM–ICS 45 min group (1.55 ± 6.33) increased avoidance responding significantly less than the CONTROL

group (7.50 ± 6.16) between the acquisition and the 24-h retention session ($F(1, 29) = 4.778$, $P = 0.037$).

The effect of stimulation treatment in the 24-h retention session was not attributable to differences in motor activity or in avoidance/escape latencies since no statistically significant differences were detected (ANOVA, all F -values < 1 , all P -values > 0.3).

3.2.2.1. Comments Experiment 2. The present experiment indicated that posttraining stimulation of the NBM does not have a facilitative effect on the retention of the two-way active avoidance task, either 24 or 48 h after the acquisition session. If anything, a slight detrimental effect on the 24-h retention session was observed when the stimulation lasted for 45 min. Rats in this group did not increase their performance from the acquisition to the 24-h retention session, in contrast to the control rats. However, the impairment observed in the rats stimulated for 45 min was transient because they managed to do as well as the remaining groups in the third conditioning session, the 48-h retention session. The general lack of effects on 24-h retention is also evident in the first 10 trials. This block of trials is especially relevant because it can be considered as a retention test of the previous training, whereas the last trials could be more informative about relearning.

These results are in contrast with previous data that showed improvements in retention following posttraining stimulation of the NBM, especially in rats with a low initial learning ability [71]. This divergence in findings could be explained by the difference in treatment duration or current intensity applied in the present study, in which stimulation could have been excessive for producing facilitative effects on the retention sessions. In this regard, a previous study from our laboratory (unpublished data) showed that

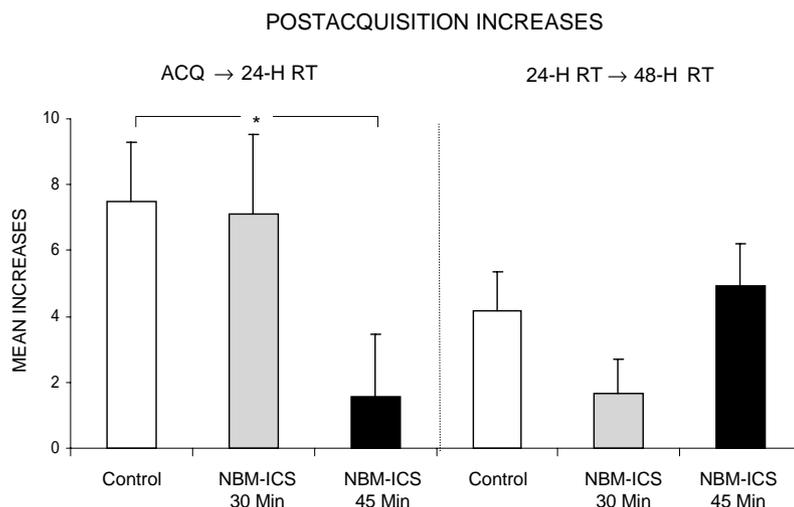


Fig. 5. Mean increases in the number of avoidances (\pm S.E.M.) between acquisition and 24-h retention and between 24-h retention and 48-h retention in the groups stimulated for 30 min, 45 min, and the control group. Rats stimulated in the NBM for 30 min showed increases similar to those observed in control rats. Control rats improved significantly more than rats stimulated for 45 min from the acquisition to the 24-h retention session ($*P < 0.05$).

stimulation over a 10-min period produced no effects on the retention of an active avoidance task. Taken together, the data indicates that there may exist an inverted U-relationship between the modulation of two-way active avoidance learning and the duration and intensity of NBM electrical stimulation when applied immediately after training.

3.2.3. Experiment 3

This experiment was designed to study the effects of NBM stimulation applied before the 24-h retention session on the retrieval process. Statistical analyses did not show differences with regard to the duration variable (30 min versus 45 min) in the NBM stimulated rats or the control rats in any session (ANOVA, all F -values < 2 , all P -values > 0.1). Therefore, we combined all data, and two groups were considered for the rest of the analyses: NBM-ICS and CONTROL groups.

Fig. 6 shows the effects of preretention NBM-ICS treatment in the three sessions of two-way active avoidance conditioning task. The mixed ANOVA analysis showed that the SESSION factor was statistically significant ($F(2, 36) = 28.988$, $P < 0.001$), whereas neither the GROUP factor nor the interaction SESSION by GROUP were statistically significant (ANOVA, all F -values < 1 , all P -values > 0.4). Thus, all the animals, regardless of treatment, could learn

the task and showed a very similar level of performance across all conditioning sessions. This result was verified by a mixed ANOVA analysis of the performance across conditioning sessions. This analysis showed that the BLOCK factor was significant ($F(8, 144) = 30.510$, $P < 0.001$) but not the GROUP factor or the interaction BLOCK by GROUP (ANOVA, all F -values < 0.8 , all P -values > 0.5). Thus, no differences between groups were found across the different blocks of conditioning. Overall, it suggests that the treatment applied before the 24-h retention session did not affect the retrieval process evaluated during retention sessions.

3.2.3.1. Comments Experiment 3. The present experiment demonstrates that NBM electrical stimulation applied immediately before the 24-h retention session did not affect 24 or 48-h retention of the two-way active avoidance task, whereas the same treatment applied just before acquisition (Experiment 1) has marked effects on the performance of the task. These differential effects seem to confirm that the enhancement in acquisition cannot be attributed to performance factors such as hyperactivity or changes in motivation or in reactivity to the shock. Therefore, our results show that the activation of the NBM affects acquisition but not retrieval of the two-way active avoidance task.

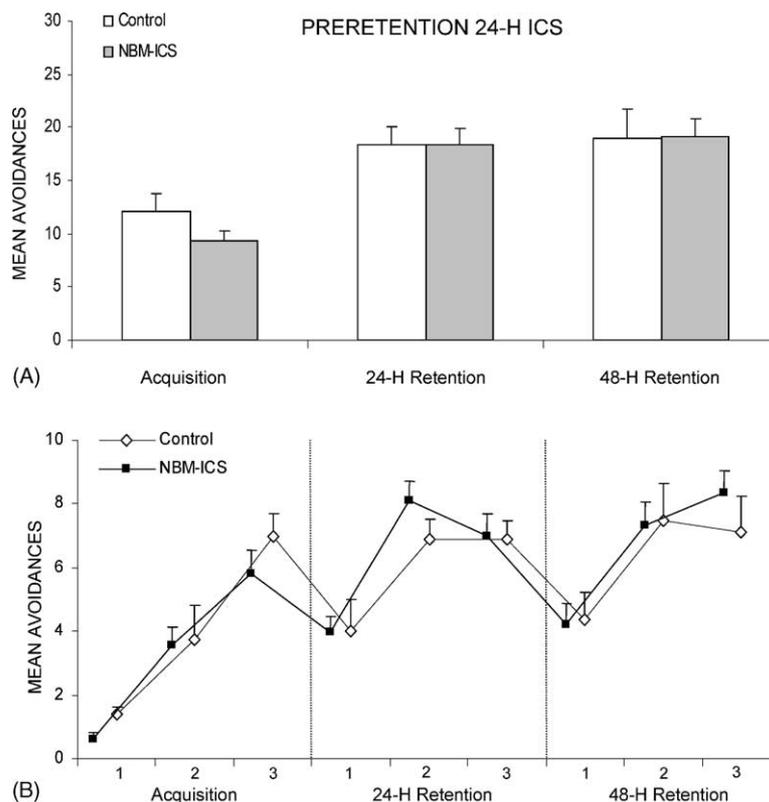


Fig. 6. Effects of preretention NBM-ICS treatment on two-way active avoidance conditioning. Electrical stimulation was applied immediately before the 24-h retention session (Experiment 3). (A) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in the three training sessions. (B) Mean number of avoidances (\pm S.E.M.) in each 10-trial block of the acquisition, 24-h retention and 48-h retention. The NBM-ICS and control groups showed a similar learning evolution along the different training sessions.

4. General discussion

The present study assessed the participation of the NBM in specific learning and memory phases, evaluating the effects of NBM electrical stimulation applied at different times during the learning of a two-way active avoidance conditioning task. The main results are: (i) stimulation of the NBM immediately before the first training session significantly improved the acquisition of the task, without affecting behavior in latter retention sessions (Experiment 1); (ii) 45 min of stimulation of the NBM immediately after the first training session disrupted performance slightly in the 24-h retention session but not the 48-h retention session (Experiment 2); (iii) stimulation of the NBM immediately before the 24-h retention session did not affect either 24 or 48-h retention sessions (Experiment 3). These findings suggest that NBM activation may contribute to early (encoding and/or maintenance) rather than late (consolidation or retrieval) phases of the task.

As suggested above (Section 3.2.1.1), the facilitation of acquisition of two-way active avoidance by pretraining NBM stimulation could be explained on the basis of attentional enhancement. There is remarkable consistency in the critical role of cholinergic NBM projections in regulating attentional function [5,28,38,39,55,57,58,94,96,98,99]. Since the efficacy of learning depends on attentional processes and capacities, which, in turn, depend on NBM projections [98], the activation of NBM could lead to facilitation of acquisition, as we have observed in this experiment. It has been shown that increases in cortical ACh efflux occur during early stages of learning, when attentional processes are engaged [2,19,37,38,78]. For that reason, the stimulation treatment, which reproduces the parameters that usually increase cortical ACh [89,90], could have improved attention by boosting the cholinergic input to the cortex. Activated cholinergic inputs can facilitate attentional processes, and thereby enhance cortical sensory and sensory-associational information processing, including the detection and selection of stimuli or the filtering of noise and distractors [29,89,98]. This role of NBM afferents is more perceptible on subjects performing tasks that tax attentional capacities, in such a way that the cortical cholinergic input is recruited primarily by prefrontal projections (“top-down” [98,99]), or in initial stages of memory formation, when attentional capacities may be more required [76,78]. In this context, the attentional demands of a task interact with the degree to which the cholinergic system is recruited [38,55,94,98].

On the other hand, corticopetal cholinergic neurons can be activated as well by new, salient, stressful, or fear- and anxiety-related stimuli via ascending noradrenergic projections (“bottom-up” [7–9,99]). In that regard, it has been considered that the first stage of the cortical ACh release from the NBM has the function of signaling novelty, which is somehow related with attentional processes [69]. In the present experiments, the task does not specifically tax attention, although include novel and stressful stimuli capable of

activating the NBM cholinergic system, adding these effects to those of stimulation itself. In any case, it seems that novel stimuli participate in the function of cholinergic system but in a less robust and more temporary manner, possibly because this effect is secondary to the norepinephrine–ACh interactions in the NBM [98].

Despite the involvement of NBM in attentional function, there may also be a role for ACh in memory as demonstrated in several studies injecting selective cholinergic immunotoxins in the NBM [3,6,12,13,18,26,83,92,93,107]. It has been recently proposed [23,32,68,69,80] that cholinergic basal forebrain modulates different memory systems allowing normal acquisition of new learning, although it is much less important in memory retrieval since it does not severely affect memories once they are encoded. Trying to further clarify the involvement of the NBM in different stages of the learning process, it has been shown that cholinergic activation decreases progressively as a function of repeated daily acquisition sessions (reviewed in [32]). All the above suggests that the contribution of NBM is less essential when a task is already well learned, and then its activation would not improve latter phases of learning, as demonstrated in the current experiments. However, previous [71] and present data indicate that posttraining NBM stimulation could either enhance or slightly worsen active avoidance retention, which suggests that the NBM could modulate in some way the consolidation of recently acquired information, and that the time window shortly after training appears to be very sensitive to the effects of brain stimulation. It is possible that the period after training (when the consolidation process is in progress) is more sensitive to small changes in stimulation parameters than the period before training, requiring a narrow optimal rank of stimulation. Thus, application of optimal NBM stimulation after presenting stimuli, with parameters that can reproduce spatial and temporal characteristics of ACh release, might signal to the cortex that an important event has occurred and promote its specific storage [111,112]. In view of that, our results seem to fit with the computational models of cholinergic function in the hippocampus, which suggest that high levels of ACh might set the appropriate dynamics for encoding, whereas low levels of ACh might facilitate the process of consolidation [35,36]. Still, a parametrical study is needed for further study the relationship between stimulation parameters and facilitation of active avoidance consolidation.

Modulatory effects of NBM activation on cognitive processes could be explained on the grounds of induction of cortical plasticity, since disruption in plasticity after cholinergic NBM damage alters cognitive functions [18]. In addition, stimulation of the NBM produces both ACh release and EEG desynchronization in the neocortex [31,61,65, for review see 89], which are directly involved in cortical plasticity. For example, the induction of neuronal receptive field plasticity in primary auditory cortex by pairing a tone with activation of the NBM is only observed when the stimulation produces cortical desynchronization [10,24], in an

atropine-sensitive manner [24]. Furthermore, electrical stimulation of the NBM induces cortical map reorganization that is prevented by selective destruction of the cholinergic NBM neurons [43]. In the present research, activation of the NBM could have created a permissive state through ACh release that would optimize neural plasticity mechanisms, which are necessary for learning and memory processes [109].

Our present and previous [71] results could be interpreted not only in the context of cortical activation but also subcortical modulation, and the circuitry underlying the behavioral effects of NBM stimulation does not need to be circumscribed to one or the other pathway [62]. As in our research, similar biphasic results have been found with an established treatment for modulating learning and memory, posttraining amygdala stimulation [54]. The NBM provides the major source of cholinergic input to the amygdala [63,74,114], which is especially relevant to aversively motivated learning [1,53]. A recent study [85] showed that selective lesions of the NBM projections to the amygdala impaired inhibitory avoidance learning and retention. It has also been reported [86] that selective cholinergic lesions of the NBM blocked memory enhancement by posttraining intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine in an inhibitory avoidance task. These findings suggest that corticopetal cholinergic projections from the NBM are involved in mediating amygdalar modulation of memory storage processes [87]. Therefore, NBM stimulation could activate the amygdala, leading to prolonged modulatory influences on memory consolidation in other brain regions [53].

Stimulation of the NBM is becoming increasingly useful in the study of learning and cortical plasticity [61], although it might be questioned that our results reflect exclusive effects on ACh release. NBM stimulation may also activate other neurotransmitter systems such as γ -aminobutyric acid neurons that send projections to the cortex [33,42,51,52]. The functions of the GABAergic branch, which seem to work in concert with the NBM cholinergic neurons to produce cortical plasticity (see [42]), can be conceptualized in terms of mediating executive aspects of cognitive performance [97]. In a more specific way, a recent report supports a role of the GABAergic system in the consolidation process of inhibitory avoidance learning [72].

In conclusion, our results represent additional evidence pointing to the hypothesis that NBM may play an important role in the acquisition of aversively motivated conditioning but not during retrieval of aversive memories [68]. Although there is evidence of the participation of NBM in consolidation, via cortex or amygdala, it seems that its primary role is mainly related to attention. This agrees with the suggestion that NBM is involved in specific episodes of acquisition and processing of behaviorally significant information, and drives cortical targets into a state of readiness allowing for more efficient processing of relevant stimuli and associations [29]. Further work on the effects of NBM stimulation, both by electrical and chemical means, is needed to elucidate its behavioral effects and ways of action.

Acknowledgements

This research was supported by a MCYT grant (PSO2002-03441), a SGR grant (2002 SGR 00080), and a fellowship to AMP from the Generalitat de Catalunya (2000FI 00460). We thank Dr. T. Michael Gill for helpful comments.

References

- [1] Aggleton JP, editor. The amygdala: a functional analysis. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2000. 690 p.
- [2] Arnold HM, Burk JA, Hodgson EM, Sarter M, Bruno JP. Differential cortical acetylcholine release in rats performing a sustained attention task versus behavioral control tasks that do not explicitly tax attention. *Neuroscience* 2002;114:451–60.
- [3] Bailey AM, Rudisill ML, Hoof EJ, Loving ML. 192 IgG-saporin lesions to the nucleus basalis magnocellularis (NBM) disrupt acquisition of learning set formation. *Brain Res* 2003;969:147–59.
- [4] Bakin JS, Weinberger NM. Induction of a physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:11219–24.
- [5] Baxter MG, Chiba AA. Cognitive functions of the basal forebrain. *Curr Opin Neurobiol* 1999;9:178–83.
- [6] Berger-Sweeney J, Stearns NA, Frick KM, Beard B, Baxter MA. Cholinergic basal forebrain is critical for social transmission of food preferences. *Hippocampus* 2000;10:729–38.
- [7] Berntson GG, Cacioppo JT, Sarter M. Bottom-up: implications for neurobehavioral models of anxiety and autonomic regulation. In: Davidson RJ, Scherer KR, Goldsmith HH, editors. *Handbook of affective neuroscience*. Oxford: Oxford University Press, 2003. p. 1105–16.
- [8] Berntson GG, Shafi R, Knox D, Sarter M. Blockade of epinephrine priming of the cerebral auditory evoked response by cortical cholinergic deafferentation. *Neuroscience* 2003;116:179–86.
- [9] Berntson GG, Shafi R, Sarter M. Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *Eur J Neurosci* 2002;16:2453–61.
- [10] Bjordahl TS, Dimyan MA, Weinberger NM. Induction of long-term receptive field plasticity in the auditory cortex of the waking guinea pig by stimulation of the nucleus basalis. *Behav Neurosci* 1998;112:467–79.
- [11] Bucci DJ, Holland PC, Gallagher M. Removal of cholinergic input to rat posterior parietal cortex disrupts incremental processing of conditioned stimuli. *J Neurosci* 1998;18:8038–46.
- [12] Butt AE, Bowman TD. Transverse patterning reveals a dissociation of simple and configural association learning abilities in rats with 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Neurobiol Learn Mem* 2002;77:211–33.
- [13] Butt AE, Noble MM, Rogers JL, Rea TE. Impairments in negative patterning, but not simple discrimination learning, in rats with 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav Neurosci* 2002;116:241–55.
- [14] Buzsáki G, Bickford RG, Ponomareff G, Thal JL, Mandel R, Gage FH. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J Neurosci* 1988;8:4007–26.
- [15] Cahill L, McGaugh JL, Weinberger NM. The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. *Trends Neurosci* 2001;24:578–81.
- [16] Casamenti F, Deffenu G, Abbamondi AL, Pepeu G. Changes in cortical acetylcholine output induced by modulation of the nucleus basalis. *Brain Res Bull* 1986;16:689–95.

- [17] Chiba AA, Bucci DJ, Holland PC, Gallagher M. Basal forebrain cholinergic lesions disrupt increments but not decrements in conditioned stimulus processing. *J Neurosci* 1995;15:7315–22.
- [18] Conner JM, Culbertson A, Packowski C, Chiba AA, Tuszynski MH. Lesions of the basal forebrain cholinergic system impair task acquisition and abolish cortical plasticity associated with motor skill learning. *Neuron* 2003;38:819–29.
- [19] Dalley JW, McGaughy J, O'Connell MT, Cardinal RN, Levita L, Robbins TW. Distinct changes in cortical acetylcholine and noradrenaline efflux during contingent and noncontingent performance of a visual attentional task. *J Neurosci* 2001;21:4908–14.
- [20] Détári L. Tonic and phasic influence of basal forebrain unit activity on the cortical EEG. *Behav Brain Res* 2000;115:159–70.
- [21] Dimyan MA, Weinberger NM. Basal forebrain stimulation induces discriminative receptive field plasticity in the auditory cortex. *Behav Neurosci* 1999;113:691–702.
- [22] Duque A, Balatoni B, Détári L, Zaborszky L. EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *J Neurophysiol* 2000;84:1627–35.
- [23] Easton A, Parker A, Gaffan D. Memory encoding and retrieval: the nature of the interactions between the primate frontal lobe and posterior cortex. In: Parker A, Wilding EL, Bussey TJ, editors. *The cognitive neuroscience of memory encoding and retrieval*. New York: Psychology Press, 2002. p. 173–96.
- [24] Edeline JM, Hars B, Maho C, Hennevin E. Transient and prolonged facilitation of the tone-evoked responses induced by basal forebrain stimulations in the rat auditory cortex. *Exp Brain Res* 1994;97:373–86.
- [25] Everitt BJ, Robbins TW. Central cholinergic systems and cognition. *Annu Rev Psychol* 1997;48:649–84.
- [26] Fine A, Hoyle C, Maclean CJ, Levatte TL, Baker HF, Ridley RM. Learning impairments following injection of a selective cholinergic immunotoxin ME20.4 IgG-saporin into the basal nucleus of Meynert in monkeys. *Neuroscience* 1997;81:331–43.
- [27] Flicker C, Dean RL, Watkins DL, Fisher SL, Bartus RT. Behavioral and neurochemical effects following neurotoxic lesions of a major cholinergic input to the cerebral cortex in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;18:973–81.
- [28] Gill TM, Sarter M, Givens B. Sustained visual attention performance-associated prefrontal neuronal activity: evidence for cholinergic modulation. *J Neurosci* 2000;20:4745–57.
- [29] Givens B, Sarter M. Modulation of cognitive processes by transsynaptic activation of the basal forebrain. *Behav Brain Res* 1997;84:1–22.
- [30] Gold PE. Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:194–210.
- [31] Golmado L, N n ez A, Zaborszky L. Electrophysiological evidence for the existence of a posterior cortical-prefrontal-basal forebrain circuitry in modulating sensory responses in visual and somatosensory rat cortical areas. *Neuroscience* 2003;119:597–609.
- [32] González CL, Miranda ML, Gutiérrez H, Ormsby C, Bermúdez-Rattoni F. Differential participation of the NBM in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion and Morris water maze. *Behav Brain Res* 2000;116:89–98.
- [33] Gritti I, Mainville L, Jones BE. Parvalbumin, calbindin, or calretinin in cortically projecting and GABAergic, cholinergic, or glutamatergic basal forebrain neurons of the rat. *J Comp Neurol* 2003;458:11–31.
- [34] Hasen hrl RU, Frisch C, Junghans U, M ller HW, Huston JP. Facilitation of learning following injection of the chondroitin sulfate proteoglycan biglycan into the vicinity of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res* 1995;70:59–67.
- [35] Hasselmo ME. Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn Sci* 1999;3:351–9.
- [36] Hasselmo ME, McGaughy J. High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Prog Brain Res* 2004;145:207–31.
- [37] Himmelheber AM, Sarter M, Bruno JP. Operant performance and cortical acetylcholine release: role of response rate, reward density, and non-contingent stimuli. *Cogn Brain Res* 1997;6:23–36.
- [38] Himmelheber AM, Sarter M, Bruno JP. Increases in cortical acetylcholine release during sustained attention performance in rats. *Cogn Brain Res* 2000;9:313–25.
- [39] Himmelheber AM, Sarter M, Bruno JP. The effects of manipulations of attentional demand on cortical acetylcholine release. *Cogn Brain Res* 2001;12:353–70.
- [40] Hohmann CF. A morphogenetic role for acetylcholine in mouse cerebral neocortex. *Neurosci Biobehav Rev* 2003;27:351–63.
- [41] Holley LA, Turchi J, Apple C, Sarter M. Dissociation between the attentional effects of infusions of a benzodiazepine receptor agonist and an inverse agonist into the basal forebrain. *Psychopharmacology* 1995;120:99–108.
- [42] Jiménez-Capdeville ME, Dykes RW, Myasnikov AA. Differential control of cortical activity by the basal forebrain in rats: a role for both cholinergic and inhibitory influences. *J Comp Neurol* 1997;381:53–67.
- [43] Kilgard MP, Merzenich MM. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science* 1998;279:1714–8.
- [44] Kilgard MP, Pandya PK, Vázquez J, Gehi A, Schreiner CE, Merzenich MM. Sensory input directs spatial and temporal plasticity in primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 2001;86:326–38.
- [45] Klein JP, Moeschberger ML. Survival analysis: techniques for censored and truncated data. New York: Springer, 2003.
- [46] Kopf SR, Buchholzer ML, Hilgert M, Loffelholz K, Klein J. Glucose plus choline improve passive avoidance behaviour and increase hippocampal acetylcholine release in mice. *Neuroscience* 2001;103:365–71.
- [47] Kurosawa M, Sato A, Sato Y. Stimulation of the nucleus basalis of Meynert increases acetylcholine release in the cerebral cortex in rats. *Neurosci Lett* 1989;98:45–50.
- [48] Kurosawa M, Sato A, Sato Y. Well-maintained responses of acetylcholine release and blood flow in the cerebral cortex to focal electrical stimulation of the nucleus basalis of Meynert in aged rats. *Neurosci Lett* 1989;100:198–202.
- [49] Lehmann O, Grottick AJ, Cassel JC, Higgins GA. A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal region. *Eur J Neurosci* 2003;18:651–66.
- [50] Lucas-Meunier E, Fossier P, Baux G, Amar M. Cholinergic modulation of the cortical neural network. *Eur J Physiol* 2003;446:17–29.
- [51] Manns ID, Alonso A, Jones BE. Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats. *J Neurosci* 2000;20:1505–18.
- [52] Manns ID, Alonso A, Jones BE. Rhythmically discharging basal forebrain units comprise cholinergic, GABAergic, and putative glutamatergic cells. *J Neurophysiol* 2003;89:1057–66.
- [53] McGaugh JL. Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends Neurosci* 2002;25:456–61.
- [54] McGaugh JL, McIntyre CK, Power AE. Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems. *Neurobiol Learn Mem* 2002;78:539–52.
- [55] McGaughy J, Dalley JW, Morrison CH, Everitt BJ, Robbins TW. Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasalis infusions of 192 IgG-saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. *J Neurosci* 2002;22:1905–13.
- [56] McGaughy J, Decker MW, Sarter M. Enhancement of sustained attention performance by the nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-418 in intact but not basal forebrain-lesioned rats. *Psychopharmacology* 1999;144:175–82.
- [57] McGaughy J, Everitt BJ, Robbins TW, Sarter M. The role of cortical cholinergic efferent projections in cognition: impact of new selective immunotoxins. *Behav Brain Res* 2000;115:251–63.

- [58] McGaughy J, Kaiser T, Sarter M. Behavioral vigilance following infusions of 192 IgG-saporin into the basal forebrain: selectivity of the behavioral impairment and relation to cortical AChE-positive fiber density. *Behav Neurosci* 1996;110:247–65.
- [59] McIntyre CK, Marriott LK, Gold PE. Cooperation between memory systems: acetylcholine release in the amygdala correlates positively with performance on a hippocampus-dependent task. *Behav Neurosci* 2003;117:320–6.
- [60] McLin III DE, Miasnikov AA, Weinberger NM. Induction of behavioral selective memory by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci* 2002;99:4002–7.
- [61] McLin III DE, Miasnikov AA, Weinberger NM. The effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on the electroencephalogram heart rate and respiration. *Behav Neurosci* 2002;116:795–806.
- [62] McLin III DE, Miasnikov AA, Weinberger NM. CS-specific gamma theta and alpha EEG activity detected in stimulus generalization following induction of behavioral memory by stimulation of the nucleus basalis. *Neurobiol Learn Mem* 2003;79:152–76.
- [63] Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1–Ch6). *Neuroscience* 1983;10:1185–201.
- [64] Metherate R, Ashe JH. Basal forebrain stimulation modifies auditory cortex responsiveness by an action at muscarinic receptors. *Brain Res* 1991;559:163–7.
- [65] Metherate R, Cox CL, Ashe JH. Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine. *J Neurosci* 1992;12:4701–11.
- [66] Miasnikov AA, McLin III DE, Weinberger NM. Muscarinic dependence of nucleus basalis induced conditioned receptive field plasticity. *Neuroreport* 2001;12:1537–42.
- [67] Miller NE. Studies of fear as an acquirable drive. I. Fear as motivation and fear reduction as reinforcement in the learning of new responses. *J Exp Psychol* 1948;38:89–101.
- [68] Miranda MI, Bermúdez-Rattoni F. Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release on acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:6478–82.
- [69] Miranda MI, Ferreira G, Ramírez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Role of cholinergic system on the construction of memories: taste memory encoding. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:211–22.
- [70] Miranda MI, Ramírez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res* 2000;882:230–5.
- [71] Montero-Pastor A, Guillazo-Blanch G, Vale-Martínez A, Nadal-Alemayn R, Martí-Nicolovius M, Morgado-Bernal I. Nucleus basalis magnocellularis electrical stimulation facilitates two-way active avoidance retention in rats. *Brain Res* 2001;900:337–41.
- [72] Morón I, Ramírez-Lugo L, Ballesteros MA, Gutiérrez R, Miranda MI, Gallo M, et al. Differential effects of bicuculline and muscimol microinjections into the nucleus basalis magnocellularis in taste and place aversive memory formation. *Behav Brain Res* 2002;134:425–31.
- [73] Mowrer OH, Lamoreaux RR. Fear as an intervening variable in avoidance conditioning. *J Comp Psychol* 1946;39:29–50.
- [74] Nagai T, Kimura H, Maeda T, McGeer PL, Peng F, McGeer EG. Cholinergic projections from the basal forebrain of rat to the amygdala. *J Neurosci* 1982;2:514–20.
- [75] Nakamura S, Ishihara T. Task-dependent memory loss and recovery following unilateral nucleus basalis lesion: behavioral and neurochemical correlation. *Behav Brain Res* 1990;29:113–22.
- [76] Naor C, Dudai Y. Transient impairment of cholinergic function in the rat insular cortex disrupts the encoding of taste in conditioned taste aversion. *Behav Brain Res* 1996;79:61–7.
- [77] Oh JD, Edwards RH, Woolf NJ. Choline acetyltransferase mRNA plasticity with Pavlovian conditioning. *Exp Neurol* 1996;140:95–9.
- [78] Orsetti M, Casamenti F, Pepeu G. Enhanced acetylcholine release in the hippocampus and cortex during acquisition of an operant behaviour. *Brain Res* 1996;724:89–96.
- [79] Orsetti M, Ferretti C, Gamalero R, Ghi P. Histamine H3-receptor blockade in the rat nucleus basalis magnocellularis improves place recognition memory. *Psychopharmacology* 2002;159:133–7.
- [80] Parker A, Easton A, Gaffan D. Memory encoding in the primate brain: the role of the basal forebrain. In: Parker A, Wilding EL, Bussey TJ, editors. *The cognitive neuroscience of memory encoding and retrieval*. New York: Psychology Press, 2002. p. 151–72.
- [81] Parmar MKB, Machin D. *Survival analysis: a practical approach*. Chichester: Wiley, 1996.
- [82] Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1997.
- [83] Pizzo DP, Thal LJ, Winkler J. Mnemonic deficits in animals depend upon the degree of cholinergic deficit and task complexity. *Exp Neurol* 2002;177:292–305.
- [84] Power AE, McGaugh JL. Cholinergic activation of the basolateral amygdala regulates unlearned freezing behavior in rats. *Behav Brain Res* 2002;134:307–15.
- [85] Power AE, McGaugh JL. Phthalic acid amygdalopetal lesion of the nucleus basalis magnocellularis induces reversible memory deficits in rats. *Neurobiol Learn Mem* 2002;77:372–88.
- [86] Power AE, Thal LJ, McGaugh JL. Lesions of the nucleus basalis magnocellularis induced by 192 IgG-saporin block memory enhancement with posttraining norepinephrine in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci* 2002;99:2315–9.
- [87] Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:178–93.
- [88] Privou C, Li JS, Hasenöhr RU, Huston JP. Enhanced learning by posttrial injection of H1 -but not H2-histaminergic antagonists into the nucleus basalis magnocellularis region. *Neurobiol Learn Mem* 1999;71:308–24.
- [89] Rasmusson DD. The role of acetylcholine in cortical synaptic plasticity. *Behav Brain Res* 2000;115:205–18.
- [90] Rasmusson DD, Clow K, Szerb JC. Frequency-dependent increase in cortical acetylcholine release evoked by stimulation of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Brain Res* 1992;594:150–4.
- [91] Rasmusson DD, Clow K, Szerb JC. Modification of neocortical acetylcholine release and electroencephalogram desynchronization due to brainstem stimulation by drugs applied to the basal forebrain. *Neuroscience* 1994;6:665–77.
- [92] Ridley RM, Barefoot HC, Maclean CJ, Pugh P, Baker HF. Different effects on learning ability after injection of the cholinergic immunotoxin ME20 41IgG-saporin into the diagonal band of Broca, basal nucleus of Meynert, or both in monkeys. *Behav Neurosci* 1999;113:303–15.
- [93] Ridley RM, Pugh P, Maclean CJ, Baker HF. Severe learning impairment caused by combined immunotoxic lesion of the cholinergic projections to the cortex and hippocampus in monkeys. *Brain Res* 1999;836:120–38.
- [94] Risbrough V, Bontempi B, Menzaghi F. Selective immunolesioning of the basal forebrain cholinergic neurons in rats: effect on attention using the 5-choice serial reaction time task. *Psychopharmacology* 2002;164:71–81.
- [95] Sarter M, Bruno JP. Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying hypothesis. *Brain Res Rev* 1997;23:28–46.
- [96] Sarter M, Bruno JP. Cortical cholinergic inputs mediating arousal, attentional processing and dreaming: differential afferent regulation of the basal forebrain by telencephalic and brainstem afferents. *Neuroscience* 2000;95:933–52.
- [97] Sarter M, Bruno JP. The neglected constituent of the basal forebrain corticopetal projection system: GABAergic projections. *Eur J Neurosci* 2002;15:1867–73.

- [98] Sarter M, Bruno JP, Givens B. Attentional functions of cortical cholinergic inputs: What does it mean for learning and memory? *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:245–56.
- [99] Sarter M, Givens B, Bruno JP. The cognitive neuroscience of sustained attention: Where top-down meets bottom-up. *Brain Res Rev* 2001;35:146–60.
- [100] Sato A, Sato Y, Uchida S. Regulation of regional cerebral blood flow by cholinergic fibers originating in the basal forebrain. *Interv J Dev Neurosci* 2001;19:327–37.
- [101] Sato A, Sato Y, Uchida S. Regulation of cerebral cortical blood flow by the basal forebrain cholinergic fibers and aging. *Auton Neurosci* 2002;96:13–9.
- [102] Semba K. Multiple output pathways of the basal forebrain: organization, chemical heterogeneity, and roles in vigilance. *Behav Brain Res* 2000;115:117–41.
- [103] Squire LR. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 1992;99:195–231.
- [104] Turchi J, Sarter M. Cortical cholinergic inputs mediate processing capacity: effects of 192 IgG-saporin-induced lesions on olfactory span performance. *Eur J Neurosci* 2000;12:4505–14.
- [105] Turchi J, Sarter M. Antisense oligodeoxynucleotide-induced suppression of basal forebrain NMDA-NR1 subunits selectively impairs visual attentional performance in rats. *Eur J Neurosci* 2001;14:103–17.
- [106] Turchi J, Sarter M. Bidirectional modulation of basal forebrain *N*-methyl-D-aspartate receptor function differentially affects visual attention but not visual discrimination performance. *Neuroscience* 2001;104:407–17.
- [107] Vale-Martínez A, Baxter MG, Eichenbaum H. Selective lesions of basal forebrain cholinergic neurons produce anterograde and retrograde deficits in a social transmission of food preference task in rats. *Eur J Neurosci* 2002;16:983–98.
- [108] Vale-Martínez A, Guillazo-Blanch G, Martí-Nicolovius M, Nadal R, Arévalo-García R, Morgado-Bernal I. Electrolytic and ibotenic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention, but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Exp Brain Res* 2002;142:52–66.
- [109] Verdier D, Dykes RW. Long-term cholinergic enhancement of evoked potentials in rat hindlimb somatosensory cortex displays characteristics of long-term potentiation. *Exp Brain Res* 2001;137:71–82.
- [110] Walsh TJ, Gandhi C, Stackman RW. Reversible inactivation of the medial septum or nucleus basalis impairs working memory in rats: a dissociation of memory and performance. *Behav Neurosci* 1998;112:1114–24.
- [111] Weinberger NM. Tuning the brain by learning and by stimulation of the nucleus basalis. *Trends Cogn Sci* 1998;2:271–3.
- [112] Weinberger NM. The nucleus basalis and memory code: auditory cortical plasticity and the induction of specific, associative behavioral memory. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:268–84.
- [113] Wenk GL. The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: one hundred years of progress. *Neurobiol Learn Mem* 1997;67:85–95.
- [114] Woolf NJ, Butcher LL. Cholinergic projections to the basolateral amygdala: a combined Evans' blue and acetylcholinesterase analysis. *Brain Res Bull* 1982;8:751–63.
- [115] Wrenn CC, Lappi DA, Wiley RG. Threshold relationship between lesion extent of the cholinergic basal forebrain in the rat and working memory impairment in the radial maze. *Brain Res* 1999;847:284–98.
- [116] Zaborszky L, Pang K, Somogyi J, Nadasdy Z, Kallo I. The basal forebrain corticopetal system revisited. *Ann NY Acad Sci* 1999;877:339–67.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

IV. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en la presente tesis doctoral constituyen la primera evidencia experimental que demuestra un efecto modulador de la EIC del NBM sobre determinados estadios del proceso de aprendizaje, en este caso, del condicionamiento de EV2. Con los resultados proporcionados por este trabajo no sólo contribuimos a avanzar en el conocimiento de la capacidad moduladora de la EIC sobre el aprendizaje y la memoria, sino que proporcionamos también nuevos datos empíricos que ayudan a clarificar la implicación del NBM en los procesos cognitivos.

Además, también hemos podido comprobar que la EIC es una técnica útil para estudiar diferentes fases del proceso de aprendizaje y de formación de la memoria en una tarea concreta, ya que una de las ventajas más destacadas que presenta este método es la inmediatez de sus efectos, a diferencia de determinados procedimientos de lesión o manipulaciones farmacológicas. De hecho, el método de EIC presenta ventajas importantes desde el punto de vista experimental ya expuestas por investigadores como Rasmusson (2000). Por ejemplo, este autor destaca el hecho de que en la EIC lo que principalmente está siendo activado son los axones neuronales y, por lo tanto, la salida de información. Este aspecto supone una menor complejidad en la interpretación de resultados en comparación con experimentos de administración de fármacos, en los cuales las diversas sustancias pueden actuar modificando cualquier tipo de sinapsis en la circuitería local del NBM. Otra ventaja destacada es que la EIC del NBM proporciona unas características espaciales y temporales de la liberación de ACh u otros neurotransmisores implicados en procesos de activación cortical y de plasticidad, que son más consistentes con la anatomía y la fisiología natural de estos sistemas de neurotransmisión (Nadal y col., 2001; Rasmusson, 2000).

· Facilitación del aprendizaje

Uno de los principales resultados obtenidos en los experimentos de la presente tesis es la significativa facilitación en la adquisición del condicionamiento de EV2 generada por la aplicación de EIC del NBM pre-entrenamiento (artículo 2). Los resultados demuestran que los sujetos tratados alcanzan mucho antes que los controles niveles asintóticos de ejecución en la tarea, lo que sugiere que el tratamiento ha podido acelerar el proceso natural de adquisición y de asociación entre estímulos durante el proceso de aprendizaje. Este efecto se hace especialmente evidente al comprobar que todos los sujetos estimulados alcanzan en la primera sesión de entrenamiento el criterio de

aprendizaje previamente establecido (5 evitaciones consecutivas), mientras que los animales controles lo alcanzan en posteriores sesiones.

Estos resultados se pueden explicar en el marco del papel del NBM en los procesos atencionales. Tal y como se ha comentado en el apartado 2.2., existen numerosas evidencias experimentales que destacan la función que las proyecciones colinérgicas corticales del NBM desempeñan en la modulación de la atención (Baxter y Chiba, 1999; Gill y col., 2000; Himmelheber y col., 2000, 2001; McGaughy y col., 1996, 2000, 2002; Sarter y Bruno, 2000; Sarter y col., 2001, 2003). Teniendo en cuenta que la eficacia del aprendizaje depende en gran medida de esta función cognitiva (Sarter y col., 2003) y que los parámetros de estimulación utilizados en el experimento son comparables a los que generan aumentos en la liberación de ACh cortical (Rasmusson, 2000; Rasmusson y col., 1992) es plausible considerar que la estimulación del NBM ha podido activar las proyecciones colinérgicas corticales modulando positivamente procesos de detección y de asociación de estímulos relevantes provocando, en consecuencia, la mejora en la adquisición mostrada por los sujetos tratados.

Por otro lado, trabajos recientes (Sarter y col., 2001, 2003) han puesto de manifiesto que las propiedades de los estímulos de la situación de aprendizaje también pueden intervenir en la modulación de los procesos de atención ejercida por el NBM. Las neuronas colinérgicas de proyección cortical del NBM pueden ser activadas por estímulos novedosos, estresantes o relacionados con el miedo o la ansiedad, a través de aferencias noradrenérgicas procedentes del LC (Berntson y col., 2002, 2003; Sarter y col., 2001). La EV2 es una tarea en la que intervienen estímulos sensoriales aversivos que resultan ansiógenos o estresantes para los sujetos, como el *shock* eléctrico (EI) o el tono (EC). Así, podemos plantear la hipótesis de que el efecto provocado por los estímulos presentes en la propia situación de condicionamiento ha podido sumarse al efecto activador principal generado por la EIC del NBM sobre la vía colinérgica basal-cortical.

- Efectos sobre la consolidación de la memoria

En el primer trabajo de la presente tesis (artículo 1) observamos que la EIC del NBM aplicada post-adquisición produce un incremento entre la sesión de adquisición y la de retención del número de respuestas correctas que los animales realizan, tanto a corto (24 horas) como a largo plazo (11 días). Esto sugiere que el tratamiento ha facilitado procesos de consolidación de la memoria. Además, a pesar de que todos los sujetos estimulados se benefician de los efectos facilitadores de la EIC, la mejora en la retención se hace especialmente evidente en los animales con un nivel bajo de adquisición inicial.

Estos resultados van en la misma dirección que los observados en otros experimentos realizados en nuestro laboratorio en los que la activación eléctrica de estructuras que, como el NBM, forman parte de sistemas neuromoduladores de la actividad cerebral (Aldavert-Vera y col., 1996; Guillazo-Blanch y col., 1999), facilitó la consolidación de la memoria de la EV2 especialmente en sujetos con niveles bajos de aprendizaje. Es probable que la EIC pueda estar aportando a los sujetos poco aprendedores algún elemento del que los sujetos aprendedores ya disponen, como por ejemplo, una mayor activación neural cortical y/o subcortical que favorezca la eficacia del procesamiento y almacenamiento de la información.

No obstante, en el segundo trabajo (artículo 2) no se observó el efecto facilitador de la estimulación del NBM sobre la retención de la EV2 tras la aplicación post-adquisición del tratamiento. En este último experimento, la estimulación del NBM produjo un ligero, aunque significativo, deterioro en la retención a las 24 horas que afectó a los sujetos que fueron estimulados durante más tiempo (45 minutos). Por otro lado, también debemos tener en cuenta que, dado que en este modelo de aprendizaje es difícil discernir entre reaprendizaje y retención propiamente dicha, el análisis de las respuestas correctas realizadas en los primeros 10 ensayos de la sesión de retención es esencial para determinar si la EIC del NBM aplicada en este experimento genera efectos sobre la consolidación de la memoria [ver *Experimento II* apartado 2.1.]. En este sentido, los datos muestran que la EIC no provocó efectos diferenciales en estos primeros ensayos entre los sujetos estimulados y controles, lo que nos sugiere que el tratamiento utilizado no afecta de forma sustancial los procesos mnemónicos.

La diferencia de resultados entre ambos experimentos puede ser explicada en base al aumento en el tiempo y en la intensidad de la corriente de estimulación aplicada en el segundo trabajo con el objetivo de potenciar los efectos facilitadores sobre la consolidación de la memoria. De hecho, diversos experimentos de EIC del NBM han mostrado que el incremento en la liberación colinérgica de la corteza, en el flujo sanguíneo cortical y en los potenciales evocados de las neuronas de la corteza, cambios neurofisiológicos estrechamente relacionados con procesos de plasticidad sináptica, dependen de parámetros como la duración, la intensidad o la frecuencia de la estimulación eléctrica (Edeline y col., 1994a; Rasmusson, 2000; Sato y col., 2002). Cabe entonces la posibilidad de que los cambios introducidos en los parámetros de la corriente eléctrica en el segundo trabajo puedan haber sido excesivos para observar facilitación de la memoria. Esto nos hace pensar que el período post-adquisición, cuando los procesos de consolidación de la memoria están teniendo lugar, pueda ser más sensible a

pequeños cambios en los parámetros de estimulación que, por ejemplo, el período pre-adquisición, requiriendo en consecuencia un rango de estimulación más limitado para poder observar efectos de potenciación de la memoria. La sugerencia de que parecen ser necesarios unos valores específicos de estimulación para obtener efectos facilitadores en la consolidación de la memoria se ve apoyada por un estudio previo realizado en nuestro laboratorio (datos no publicados). En este experimento se demostró que la estimulación post-adquisición del NBM aplicada durante 10 minutos a una intensidad de 90 μ A no producía efectos en la retención de la EV2 a las 24 horas de su adquisición. Todos estos datos indican que puede existir una relación de U invertida entre la duración e intensidad de la estimulación eléctrica del NBM aplicada post-adquisición y la modulación de la consolidación de la memoria. De esta manera, tanto períodos cortos o excesivamente largos de estimulación como intensidades bajas o elevadas supondrían condiciones estimulares no adecuadas para generar efectos facilitadores en la consolidación de la memoria.

En definitiva, tomando globalmente los datos, podemos afirmar que la activación post-adquisición del NBM modula la consolidación de la memoria, efecto que parece estar notablemente mediado por diversas variables tales como los parámetros del tratamiento de EIC o las propias diferencias individuales mostradas por los sujetos en la adquisición de la EV2.

- Efectos sobre la recuperación de la información

El siguiente resultado destacable de los trabajos que constituyen la presente tesis doctoral es que la EIC del NBM aplicada previamente a la sesión de retención no genera ningún tipo de efecto sobre la ejecución de los sujetos tratados (artículo 2). Este resultado se halla en consonancia con los datos mostrados por otros grupos de investigación, en experimentos con lesiones excitotóxicas o con inactivación reversible del NBM, los cuales sugieren que el NBM no parece ser una estructura crítica en la recuperación de la información de determinadas tareas cuando éstas ya han sido adquiridas (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Walsh y col., 1998).

Esta ausencia de efectos es un dato especialmente relevante en tanto que contribuye a clarificar los procesos cognitivos concretos en los que el NBM interviene de forma más crítica. El hecho de que la EIC del NBM provoque efectos facilitadores fundamentalmente en la adquisición, aunque también en la retención de la EV2, pero no en la recuperación de la información ya aprendida, constituye un dato a favor de la hipótesis planteada por numerosos investigadores según la cual el NBM y sus

proyecciones colinérgicas se hallan principalmente implicados en los estadios iniciales del aprendizaje y de la formación de la memoria (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000; Naor y Dudai, 1996; Orsetti y col., 1996; Ramírez-Lugo y col., 2003). Además, las fases de adquisición y de consolidación de la información están asociadas a altos niveles de ACh en la corteza, los cuales disminuyen progresivamente a lo largo de las sesiones de entrenamiento de una tarea determinada, es decir, a medida que va siendo aprendida (González y col., 2000; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda y col., 2000; Orsetti y col., 1996).

Por lo tanto, teniendo en cuenta que el NBM y sus proyecciones colinérgicas corticales participan fundamentalmente en aspectos y procesos que no suelen contribuir de forma decisiva en fases posteriores del proceso general de aprendizaje es plausible suponer que los posibles efectos generados por la estimulación del NBM, como la liberación colinérgica y la activación cortical, no hayan supuesto consecuencias conductuales de facilitación en la recuperación de la información de la tarea de EV2.

· Posibles mecanismos neurales involucrados en la modulación de los procesos cognitivos mediante EIC del NBM

La EIC del NBM ha demostrado ser un procedimiento experimental capaz de generar efectos activadores importantes a nivel cortical (Détári, 2000; Détári y col., 1999), mediados fundamentalmente por la ACh (Golmayo y col., 2003), proporcionando las condiciones neurales óptimas para favorecer mecanismos subyacentes al aprendizaje y la memoria, como son los procesos de plasticidad sináptica (Rasmusson, 2000; Weinberger, 2003). Los parámetros de estimulación –frecuencia y duración de trenes y pulsos eléctricos- utilizados en los experimentos de la presente tesis doctoral son similares a los que inducen incrementos en los niveles colinérgicos corticales (Rasmusson, 2000; Rasmusson y col., 1992), activación electroencefalográfica (Golmayo y col., 2003; McLin III y col., 2002b, 2003), así como también mecanismos de plasticidad cortical (Bakin y Weinberger, 1996; Bjordahl y col., 1998; Dimyan y Weinberger, 1999; Kilgard y Merzenich, 1998; Miasnikov y col., 2001). Por lo tanto, parece adecuado pensar que los efectos facilitadores descritos en los trabajos de la presente tesis puedan ser debidos, en gran parte, a la potenciación de la función colinérgica y a la inducción de un estado de *arousal* cerebral óptimo, ambos procesos generados en períodos críticos para la adquisición y consolidación de la información.

Por otro lado, consideramos importante destacar que los efectos moduladores de la EIC del NBM pueden haberse producido por la activación no sólo de estructuras

corticales sino también subcorticales que pudieran estar involucradas en los procesos de adquisición y de consolidación de la memoria. En este sentido, la ABL parece ser una de las estructuras clave en la modulación de procesos mnemónicos tal y como indican recientes investigaciones (Power y McGaugh, 2002b; Power y col., 2002). En estos trabajos se demuestra que el NBM y la ABL actúan conjuntamente en la regulación de la memoria, ya que la lesión de las vías colinérgicas del NBM hacia la ABL (Power y McGaugh, 2002b) y de las proyecciones basal-corticales (Power y col., 2002) impiden la función moduladora ejercida por ambas estructuras. Además, la relación de U invertida entre determinados parámetros de la EIC del NBM y la modulación de la consolidación de la memoria también ha sido observada en experimentos de estimulación de la amígdala post-adquisición (Gold y col., 1973, 1975; McGaugh y Gold., 1976). En estos trabajos se demostró que el tratamiento de EIC podía tanto potenciar como deteriorar la retención de una tarea de evitación pasiva dependiendo, en este caso, de la intensidad del tratamiento aplicado. Estos resultados sugieren que la función primordial de la amígdala sería la de modular la consolidación de la información recientemente adquirida (McGaugh y col., 2002). En consecuencia, en la facilitación de la adquisición y, básicamente, en la consolidación de la memoria, la posible activación de la vía basal-amigdalal puede haber ejercido una notable influencia en la modulación de tales procesos, sobre todo teniendo en cuenta que la EV2 es una tarea con un importante componente emocional, aspecto en el que la amígdala está estrechamente involucrada (Davis, 2000; Le Doux, 2000; McGaugh, 2002; McGaugh y col., 1992, 2002; McIntyre y col., 2003).

Llegados a este punto, observamos que la EIC del NBM, aplicada en períodos críticos y con unas propiedades estimulares óptimas, parece generar estados de activación cortical y subcortical mediados colinérgicamente que favorecen la adquisición y la consolidación de la información de una tarea de EV2. Sin embargo, conviene destacar que la técnica de EIC es inespecífica en tanto que no permite la estimulación de un tipo de neuronas concretas del NBM. Así, no podemos descartar que los efectos observados puedan ser debidos a la activación de otros sistemas de neurotransmisión como el GABAérgico que, junto con la función colinérgica, conlleven en última instancia a la facilitación del procesamiento de la información y el reforzamiento de las conexiones neurales críticas para el proceso de aprendizaje y de formación de la memoria.

PRINCIPALES RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

Los principales resultados y conclusiones de los experimentos que constituyen la presente tesis doctoral son los siguientes:

- La estimulación eléctrica del NBM administrada pre-adquisición facilita el aprendizaje de la tarea de EV2. El efecto facilitador observado podría ser resultado de la potenciación de procesos de atención y/o de procesamiento de la información durante la adquisición del condicionamiento.
- La estimulación eléctrica del NBM aplicada post-adquisición tiene un efecto modulador de la retención de la EV2. Este efecto parece depender de los parámetros de intensidad y duración de la corriente eléctrica utilizados en el tratamiento, siguiendo una función de U invertida.
- La estimulación eléctrica del NBM aplicada post-adquisición durante 20 minutos facilita la retención del condicionamiento especialmente en sujetos que parten de niveles bajos de adquisición.
- El efecto de facilitación de la retención del condicionamiento tras el tratamiento de estimulación eléctrica podría ser resultado de un incremento de la actividad cortical y/o subcortical (amígdala) durante períodos críticos de consolidación de la memoria.
- La estimulación del NBM administrada inmediatamente antes de la sesión de retención a las 24 horas no afecta a la recuperación de la información de la tarea ya adquirida.
- El NBM tiene un papel importante en los estadios iniciales del aprendizaje, es decir, durante los procesos de adquisición de nueva información así como durante la consolidación de la memoria. Sin embargo, este núcleo no parece ser necesario para la recuperación de la información una vez ésta ha sido adquirida.
- La modulación de procesos cognitivos como la atención, la adquisición y la consolidación de la memoria podría ser resultado de un incremento en los niveles de ACh cortical y/o subcortical resultado del tratamiento de estimulación eléctrica del NBM.

En conclusión, los efectos facilitadores del aprendizaje y la memoria observados en los experimentos de esta tesis doctoral permiten afirmar que la EIC del NBM constituye un procedimiento adecuado para la modulación de determinados procesos cognitivos a través, probablemente, de la inducción de un estado de activación cortical y subcortical óptimo para el procesamiento eficaz de la información. Además, los resultados obtenidos proporcionan nuevas evidencias acerca de la hipótesis según la cual el NBM está implicado fundamentalmente en los primeros estadios del aprendizaje pero no en fases posteriores como la recuperación de la información.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aamandas, J.H., Raby, W., Rogers, J., Bujs, R.M. y Renaund, L.P. (1989). Diagonal band projection towards the hypothalamic supraoptic nucleus: light and electron microscopic observations in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 282:15-23.
- Abe, K., Horiuchi, M. y Yoshimura, K. (1997). Potentiation by DSP-4 of EEG slowing and memory impairment in basal forebrain-lesioned rats. *European Journal of Pharmacology*, 321(2):149-155.
- Adachi, T., Biesold, D., Inanami, O. y Sato, A. (1990). Stimulation of the nucleus basalis of Meynert and substantia innominata produces widespread increases in cerebral blood flow in the frontal, parietal and occipital cortices. *Brain Research*, 514:163-166.
- Albanese, A., Castagna, M. y Altavista, M.C. (1985). Cholinergic and non-cholinergic forebrain projections to the interpeduncular nucleus. *Brain Research*, 329(1-2):334-339.
- Aldavert-Vera, L., Segura-Torres, P., Costa-Miserachs, D. y Morgado-Bernal, I. (1996). Shuttle-box memory facilitation by posttraining intracranial self-stimulation: differential effects in rats with high and low basic conditioning levels. *Behavioral Neuroscience*, 110(2):346-352.
- Ambrogi-Lorenzini, C.G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. y Tassoni, G. (1999). Neural topography and chronology of memory consolidation: a review of functional inactivation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71:1-18.
- Ambrogi-Lorenzini, C., Baldi, E., Bucherelli, C. y Tassoni, G. (1994). Post-training nucleus basalis magnocellularis functional tetrodotoxin blockade effects on passive avoidance consolidation in the rat. *Behavioural Brain Research*, 61(2):191-196.
- Aoki, C. y Kabak, S. (1992). Cholinergic terminals in the cat visual cortex: ultrastructural basis for interaction with glutamate-immunoreactive neurons and other cells. *Visual Neuroscience*, 8(3):177-191.
- Arnold, H.M., Burk, J.A., Hodgson, E.M., Sarter, M. y Bruno, J.P. (2002). Differential cortical acetylcholine release in rats performing a sustained attention task versus

- behavioral control tasks that do not explicitly tax attention. *Neuroscience*, 114(2):451-460.
- Asanuma, C. (1997). Distribution of neuromodulatory inputs in the reticular and dorsal thalamic nuclei. En M. Steriade, E.G. Jones y D.A. McCormick (Eds.). *Thalamus II. Experimental and Clinical Aspects*. Amsterdam: Elsevier.
- Aston-Jones, G., Rajkowski, J., Kubiak, P., Valentino, R.J. y Shipley, M.T. (1996). Role of the locus coeruleus in emotional activation. *Progress in Brain Research*, 107:379-402
- Auberbach, J.M. y Segal, M. (1994). A novel cholinergic induction of long-term potentiation in rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 72:2034-2040.
- Auberbach, J.M. y Segal, M. (1996). Muscarinic receptors mediating depression and long-term potentiation in rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 492:479-493.
- Bacciottini, L., Pasan, M.B., Mannaioni, P.F. y Blandina, P. (2001). Interactions between histaminergic and cholinergic systems in learning and memory. *Behavioural Brain Research*, 124(2):183-94.
- Bailey, A.M., Rudisill, M.L., Hoof, E.J. y Loving, M.L. (2003). 192 IgG-saporin lesions to the nucleus basalis magnocellularis (NBM) disrupt acquisition of learning set formation. *Brain Research*, 969:147-159.
- Bailey, A.M. y Thomas, R.K. (2001). The effects of nucleus basalis magnocellularis lesions in Long-Evans hooded rats on two learning set formation tasks, delayed matching-to-sample learning, and open-field activity. *Behavioral Neuroscience*, 115(2):328-340.
- Bakin, J.S., Lapan, B. y Weinberger, N.M. (1992). Sensitization induced receptive field plasticity in the auditory cortex is independent of CS-modality. *Brain Research*, 577:226-235.
- Bakin, J.S., South, D.A. y Weinberger, N.M. (1996). Induction of receptive field plasticity in the auditory cortex of the guinea pig during instrumental avoidance conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 110:905-913.

- Bakin, J.S. y Weinberger, N.M. (1990). Classical conditioning induces CS-specific receptive field plasticity in the auditory cortex of the guinea pig. *Brain Research*, 536:271-286.
- Bakin, J.S. y Weinberger, N.M. (1996). Induction of a physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93:11219-11224.
- Balducci, C., Nurra, M., Pietropoli, A., Samanin, R. y Carli, M. (2003). Reversal of visual attention dysfunction after AMPA lesions of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) by the cholinesterase inhibitor donepezil and by a 5-HT1A receptor antagonist WAY 100635. *Psychopharmacology (Berl)*, 167(1):28-36.
- Barros, D.M., Pereira, P., Medina, J.H. y Izquierdo, I. (2002). Modulation of working memory and of long- but not short-term memory by cholinergic mechanisms in the basolateral amygdala. *Behavioural Pharmacology*, 13(2):163-167.
- Batchelor, P.E., Armstrong, D.M., Blazer, S.N. y Gage, F.H. (1989). Nerve growth factor receptor and choline acetyltransferase colocalization in neurons within the rat forebrain: response to fimbria-fornix transection. *The Journal of Comparative Neurology*, 284:187-204.
- Baxter, M.G. (2000). Effects of selective immunotoxic lesions on learning and memory. En: W.A. Hall (Ed.). *Methods in Molecular Biology: Immunotoxic Methods and Protocols*. (Vol. 166). Totowa (N.J.): Humana Press (pp. 249-265).
- Baxter, M.G., Bucci, D.J., Gorman, L.K., Wiley, R.G. y Gallagher, M. (1995). Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: effects on learning and memory in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109(4):714-722.
- Baxter, M.G., Bucci, D.J., Sobel, T.J., Williams, M.J., Gorman, L.K. y Gallagher, M. (1996). Intact spatial learning following lesions of basal forebrain cholinergic neurons. *Neuroreport*, 7(8):1417-1420.
- Baxter, M.G. y Chiba, A.A. (1999). Cognitive functions of the basal forebrain. *Current Opinion in Neurobiology*, 9:178-183.
- Bayer, L., Eggermann, E., Saint-Mieux, B., Machard, D., Jones, B.E., Muhlethaler, M. y Serafin, M. (2002). Selective action of orexin (hypocretin) on nonspecific

- thalamocortical projection neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22:7838-7839.
- Bear, M.F., Connors, B.W. y Paradiso, M.A. (2001). *Neuroscience. Exploring the Brain*. (2nd ed.). USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Beaulieu, C. y Somogyi, P. (1991). Enrichment of cholinergic synaptic terminals on GABAergic neurons and coexistence of immunoreactive GABA and choline acetyltransferase in the same synaptic terminals in the striate cortex of the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 304(4):666-680.
- Benington, J.H., Szymusiak, R., McGinty, D. y Siegel, J.M. (1994). Nucleus basalis lesions do not disrupt EEG regulation during nonREM sleep. *Soc Neurosci Abstr*, 20:79.
- Berger-Sweeney, J., Heckers, S., Mesulam, M.M., Wiley, R.G., Lappi, D.A. y Sharma, M. (1994). Differential effects on spatial navigation of immunotoxin-induced cholinergic lesions of the medial septal area and nucleus basalis magnocellularis. *The Journal of Neuroscience*, 14(7):4507-4519.
- Berger-Sweeney, J., Stearns, N.A., Frick, K.M., Beard, B. y Baxter, M.G. (2000). Cholinergic basal forebrain is critical for social transmission of food preferences. *Hippocampus*, 10(6):729-738.
- Berman, D.E., Hazvi, S., Neduva, V. y Dudai, Y. (2000). The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1-2 and formation of a memory trace. *The Journal of Neuroscience*, 20(18):7017-7023.
- Bermúdez-Rattoni, F., Miranda, M.I. y Gutiérrez, H. (2002). Cortical cholinergic modulation in memory formation. En P.E. Gold y W.T. Greenough (Eds.). *Memory Consolidation. Essays in Honor of James L. McGaugh*. Washington, D.C.: American Psychological Association (pp. 185-199).
- Berntson, G.G., Cacioppo, J.T. y Sarter, M. (2003). Bottom-up: Implications for neurobehavioral models of anxiety and autonomic regulation. En R.J. Davidson, K.R., Scherer y H.H. Goldsmith (Eds.). *Handbook of Affective Neuroscience*. Oxford: Oxford University Press (pp. 1105-1116).

- Berntson, G.G., Sarter, M. y Cacioppo, J.T. (1998). Anxiety and cardiovascular reactivity: the basal forebrain cholinergic link. *Behavioural Brain Research*, 94(2):225-248.
- Bernston, G.G., Shafi, R. y Sarter, M. (2002). Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *The European Journal of Neuroscience*, 16:2453-2461.
- Berridge, C.W., Bolen, S.J., Manley, M.S. y Foote, S.L. (1996). Modulation of forebrain electroencephalographic activity in halothane-anesthetized rat via actions of noradrenergic β -receptors within the medial septal region of the basal forebrain. *The Journal of Neuroscience*, 16:7010-7020.
- Berridge, C.W. y Foote, S.L. (1996). Enhancement of behavioral and electroencephalographic indices of waking following stimulation of noradrenergic β -receptors within the medial septal regions of the basal forebrain. *The Journal of Neuroscience*, 16:6999-7009.
- Bickford, M.E., Günlük, A.E., Van Horn, S.C. y Sherman, S.M. (1994). GABAergic projection from the basal forebrain to the visual sector of the thalamic reticular nucleus in the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 348:481-510.
- Biesold, D., Inanami, O., Sata, A. y Sato, Y. (1989). Stimulation of the nucleus basalis of Meynert increases cerebral cortical blood flow in rats. *Neuroscience Letters*, 98(1):39-44.
- Bina, K., Rusak, B. y Semba, K. (1993). Localization of cholinergic neurons in the forebrain and brainstem that project to the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus in rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 335:295-307.
- Bjordahl, T.S., Dimyan, M.A. y Weinberger, N.M. (1998). Induction of long-term receptive field plasticity in the auditory cortex of the waking guinea pig by stimulation of the nucleus basalis. *Behavioral Neuroscience*, 112(3):467-479.
- Braak, H., Griffing, K. y Braak, E. (1997). Neuroanatomy of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research*, 3:235-247.
- Brauer, K., Schober, A., Wolff, J.R., Winkelmann, E., Lupp, H., Luth, H.J. y Bottcher, H. (1991). Morphology of neurons in the rat basal forebrain nuclei: comparison between NADPH-diaphorase histochemistry and immunohistochemistry of

- glutamic acid decarboxylase, choline acetyltransferase, somatostatin and parvalbumin. *Journal fur Hirnforschung*, 32(1):1-17.
- Broide, R.S. y Leslie, F.M. (1999). The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in neuronal plasticity. *Molecular Neurobiology*, 20:1-16.
- Brown, R.E., Stevens, D.R. y Haas, H.L. (2001). The physiology of brain histamine. *Progress in Neurobiology*, 63:637-672.
- Burk, J.A. y Sarter, M. (2001). Dissociation between the attentional functions mediated via basal forebrain cholinergic and GABAergic neurons. *Neuroscience*, 105(4):899-909.
- Bushnell, P.J. (1998). Behavioral approaches to the assessment of attention in animals. *Psychopharmacology (Berl)*, 138(3-4):231-259.
- Bushnell, P.J., Chiba, A.A. y Oshiro, W.M. (1998). Effects of unilateral removal of basal forebrain cholinergic neurons on cued target detection in rats. *Behavioural Brain Research*, 90(1):57-71.
- Butcher, L.L. (1995). Cholinergic neurons and networks. En G. Paxinos (Ed.). *The Rat Nervous System*. (2nd ed.). San Diego: Academic Press (pp. 1004-1015).
- Butt, A.E. y Bowman, T.D. (2002). Transverse patterning reveals a dissociation of simple and configural association learning abilities in rats with 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77:211-233.
- Butt, A.E. y Hodge, G.K. (1995). Acquisition, retention, and extinction of operant discriminations in rats with nucleus basalis magnocellularis lesions. *Behavioral Neuroscience*, 109(4):699-713.
- Butt, A.E. y Hodge, G.K. (1997). Simple and configural association learning in rats with bilateral quisqualic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behavioural Brain Research*, 89(1-2):71-85.
- Butt, A.E., Noble, M.M., Rogers, J.L. y Rea, T.E. (2002). Impairments in negative patterning, but not simple discrimination learning, in rats with 192 IgG-saporin

- lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behavioral Neuroscience*, 116:241-255.
- Buzsáki, G., Bickford, R.G., Ponomareff, G., Thal, J.L., Mandel, R. y Gage, F.H. (1988). Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *The Journal of Neuroscience*, 8:4007-4026.
- Cahill, L. y McGaugh, J. L. (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends in Neurosciences*, 21:294-299.
- Cahill, L., McGaugh, J.L. y Weinberger, N.M. (2001). The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. *Trends in Neuroscience*, 24(10):578-581.
- Cahill, L., Pham, C.A. y Setlow, B. (2000). Impaired memory consolidation in rats produced with β -adrenergic blockade. *Neurobiology of Learning and Memory*, 74:259-266.
- Cape, E.G. y Jones, B.E. (1998). Differential modulation of high-frequency gamma-electroencephalogram activity and sleep-wake state by noradrenaline and serotonin microinjections into the region of cholinergic basalis neurons. *The Journal of Neuroscience*, 18:2653-2666.
- Cape, E.G., Manns, I.D., Alonso, A., Beaudet, A. y Jones, B.E. (2000). Neurotensin-induced bursting of cholinergic basal forebrain neurons promotes gamma and theta cortical activity together with waking and paradoxical sleep. *The Journal of Neuroscience*, 20(22):8452-8461.
- Carlsen, J., Zaborszky, L. y Heimer, L. (1985). Cholinergic projections from the basal forebrain to the basolateral amygdaloid complex: a combined retrograde fluorescent and immunohistochemical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 234(2):155-167.
- Carlson, N.R. (2003). *Physiology of Behavior* (8th ed.). Massachusetts: Allyn y Bacon.
- Carnes, K.M., Fuller, T.A. y Price, J.L. (1990). Sources of presumptive glutamatergic/aspartatergic afferents to the magnocellular basal forebrain in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 302(4):824-852.

- Casamenti, F., Deffenu, G., Abbamondi, A.L. y Pepeu, G. (1986). Changes in cortical acetylcholine output induced by modulation of the nucleus basalis. *Brain Research Bulletin*, 16(5):689-695.
- Castro-Alamancos, M. A. y Connors, B. W. (1996). Short-term plasticity of a thalamocortical pathway dynamically modulated by behavioral state. *Science*, 272(5259):274-277.
- Cecchi, M., Passani, M.B., Bacciottini, L., Mannaioni, P.F. y Blandina, P. (2001). Cortical acetylcholine release elicited by stimulation of histamine H1 receptors in the nucleus basalis magnocellularis: a dual-probe microdialysis study in the freely moving rat. *The European Journal of Neuroscience*, 13(1):68-78.
- Chen, Z. y Shen, Y. (2002). Effects of brain histamine on memory deficit induced by nucleus basalis-lesion in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 23(1):66-70.
- Chiba, A.A., Bucci, D.J., Holland, P.C. y Gallagher, M. (1995). Basal forebrain cholinergic lesions disrupt increments but not decrements in conditioned stimulus processing. *The Journal of Neuroscience*, 15(11):7315-7322.
- Chudasama, Y., Dalley, J.W., Nathwani, F., Bouger, P. y Robbins, T.W. (2004). Cholinergic modulation of visual attention and working memory: Dissociable effects of basal forebrain 192IgG-saporin lesions and intraprefrontal infusions of scopolamine. *Learning and Memory*, 11(1):78-86.
- Cole, G.M. y Frautschy, S.A. (1997). Animal models for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Disease Review*, 2:2-10.
- Conner, J.M., Culberson, A., Packowski, C., Chiba, A.A. y Tuszynski, M.H. (2003). Lesions of the Basal forebrain cholinergic system impair task acquisition and abolish cortical plasticity associated with motor skill learning. *Neuron*, 38(5):819-829.
- Consolo, S., Bertorelli, R., Forloni, G.L. y Butcher, L.L. (1990). Cholinergic neurons of the pontomesencephalic tegmentum release acetylcholine in the basal nuclear complex of freely moving rats. *Neuroscience*, 37:717-723.
- Cooper, J.R., Bloom, F.E. y Roth, R.H. (2003). *The biochemical basis of neuropharmacology*. New York: Oxford University Press.

- Corbetta, M. y Shulman, G. L. (2002). Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 3:201-215.
- Cornwall, J., Cooper, J.D. y Phillipson, O.T. (1990). Afferent and efferent connections of the laterodorsal tegmental nucleus in the rat. *Brain Research Bulletin*, 25(2):271-284.
- Coull, J.T., Frith, C.D., Dolan, R.J., Frackowiak, R.S. y Grasby, P.M. (1997). The neural correlates of the noradrenergic modulation of human attention, arousal and learning. *The European Journal of Neuroscience*, 9(3):589-598.
- Cruikshank, S.J. y Weinberger, N.M. (1996). Evidence for the Hebbian hypothesis in experience-dependent physiological plasticity of neocortex: a critical review. *Brain Research Reviews*, 22:191-228.
- Cruikshank, S.J. y Weinberger, N.M. (2001). In vivo Hebbian and basal forebrain stimulation treatment in morphologically identified auditory cortical cells. *Brain Research*, 891(1-2):78-93.
- Cummings, J.L. (2000). Cognitive and behavioral heterogeneity in Alzheimer's disease: seeking the neurobiological basis. *Neurobiology of Aging*, 21:845-861.
- Curzon, P., Bannon, A.W. y Decker, M.W. (1999). Effect of 192IgG-saporin injections into the nucleus basalis magnocellularis on acquisition and performance of a go/no-go procedure in the rat. *Psychobiology*, 27(1):114-122.
- Dalley, J.W., McGaughy, J., O'Connell, M.T., Cardinal, R.N., Levita, L. y Robbins, T.W. (2001). Distinct changes in cortical acetylcholine and noradrenaline efflux during contingent and noncontingent performance of a visual attentional task. *The Journal of Neuroscience*, 21(13):4908-4914.
- Darnaudery, M., Pallarés, M., Bouyer, J.J., Le Moal, M. y Mayo, W. (1999). Infusion of neurosteroids into the rat nucleus basalis affects paradoxical sleep in accordance with their memory modulating properties. *Neuroscience*, 92(2):583-588.
- Davis, M. (2000). The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. En J.P. Aggleton (Ed.). *The Amygdala. A Functional Analysis*. (2nd ed.). New York: Oxford University Press.

- De Lacalle, S., Kulkarni, S. y Mufson, E.J. (1997). Plasticity of galaninergic fibers following neurotoxic damage within the rat basal forebrain: Initial observations. *Experimental Neurology*, 146:361-366.
- De Rosa, E., Hasselmo, M.E. y Baxter, M.G. (2001). Contribution of the cholinergic basal forebrain to proactive interference from stored odor memories during associative learning in rats. *Behavioral Neuroscience*, 115(2):314-327.
- Delacour, J., Houcine, O. y Costa, J. (1990). Evidence for a cholinergic mechanism of learned changes in the responses of barrel field neurons of the awake and undrugged rat. *Neuroscience*, 34:1-8.
- Destrade, C. y Jaffard, R. (1978). Post-trial hippocampal and lateral hypothalamic electrical stimulation. Facilitation on long-term memory of appetitive avoidance learning tasks. *Behavioral Biology*, 22:345-374.
- Détári, L. (2000). Tonic and phasic influence of basal forebrain unit activity on the cortical EEG. *Behavioural Brain Research*, 115:159-170.
- Détári, L., Rasmusson, D.D. y Semba, K. (1997a). Phasic relationship between the activity of basal forebrain neurons and cortical EEG in urethane-anesthetized rat. *Brain Research*, 759(1):112-121.
- Détári, L., Rasmusson, D.D. y Semba, K. (1999). The role of basal forebrain neurons in tonic and phasic activation of the cerebral cortex. *Progress in Neurobiology*, 58:249-277.
- Détári, L., Semba, K. y Rasmusson, D.D. (1997b). Responses of cortical EEG-related basal forebrain neurons to brainstem and sensory stimulation in urethane-anaesthetized rats. *The European Journal of Neuroscience*, 9(6):1153-1161.
- Détári, L. y Vanderwolf, C.H. (1987). Activity of identified cortically projecting and other basal forebrain neurones during large slow waves and cortical activation in anaesthetized rats. *Brain Research*, 437(1):1-8.
- Dimyan, M.A. y Weinberger, N.M. (1999). Basal forebrain stimulation induces discriminative receptive field plasticity in the auditory cortex. *Behavioral Neuroscience*, 113(4):691-702.

- Dornan, W.A., McCampbell, A.R., Tinkler, G.P., Hickman, L.J., Bannon, A.W., Decker, M.W. y Gunther, K.L. (1996). Comparison of site-specific injections into the basal forebrain on water maze and radial arm maze performance in the male rat after immunolesioning with 192 IgG saporin. *Behavioural Brain Research*, 82(1):93-101.
- Dornan, W.A., McCampbell, A.R., Tinkler, G.P., Hickman, L.J., Bannon, A.W., Decker, M.W. y Gunther, K.L. (1997). Comparison of site specific injections into the basal forebrain on water maze and radial arm maze performance in the male rat after immunolesioning with 192 IgG saporin. *Behavioural Brain Research*, 86(2):181-189.
- Douglas, R. y Martin, K. Neocortex. En G.M. Shepherd (Ed.). *The Synaptic Organization of the Brain*. New York: Oxford University Press (pp. 459-509).
- Dringenberg, H. (2000). Alzheimer's disease: more than a cholinergic disorder-evidence that cholinergic-monoaminergic interactions contribute to EEG slowing and dementia. *Behavioural Brain Research*, 115:235-249.
- Dringenberg, H.C. y Kuo, M.C. (2003). Histaminergic facilitation of electrocorticographic activation: role of basal forebrain, thalamus, and neocortex. *The European Journal of Neuroscience*, 18:2285-2291.
- Dringenberg, H.C. y Olmstead, M.C. (2003). Integrated contributions of basal forebrain and thalamus to neocortical activation elicited by pedunculo-pontine tegmental stimulation in urethane-anesthetized rats. *Neuroscience*, 119(3):839-853.
- Dringenberg, H.C. y Vanderwolf, C.H. (1996). Cholinergic activation of the electrocorticogram: an amygdaloid activating system. *Experimental Brain Research*, 108(2):285-296.
- Dringenberg, H.C. y Vanderwolf, C.H. (1997). Neocortical activation: Modulation by multiple pathways acting on central cholinergic and serotonergic systems. *Experimental Brain Research*, 116:160-174.
- Dringenberg, H.C. y Vanderwolf, C.H. (1998). Involvement of direct and indirect pathways in electrocorticographic activation. *Neurosci Biobehav Rev*, 22(2):243-257.

- Dunnett, S.B., Whishaw, I.Q., Jones, G.H. y Bunch, S.T. (1987). Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rats. *Neuroscience*, 20(2):653-669.
- Duque, A., Baltoni, B., Détári, L. y Zaborszky, L. (2000). EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *Journal of Neurophysiology*, 84:1627-1635.
- Duque, A., Détári, L. y Zaborszky, L. (1999). Identified basal forebrain neurons: Unit activity and its relationship to cortical EEG. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 25:190.
- Dykes, R.W. (1997). Mechanisms controlling neuronal plasticity in somatosensory cortex. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 75:535-545.
- Edeline, J.M., Hars, B., Maho, C. y Hennevin, E. (1994a). Transient and prolonged facilitation of the tone-evoked responses induced by basal forebrain stimulations in the rat auditory cortex. *Experimental Brain Research*, 97:373-386.
- Edeline, J.M., Maho, C., Hars, B. y Hennevin, E. (1994b). Non-awaking basal forebrain stimulation enhances auditory cortex responsiveness during slow-wave sleep. *Brain Research*, 636(2):333-337.
- Edeline, J.M., Neurenschwander-El Massioui, N. y Dutrieux, G. (1990). Frequency-specific cellular changes in the auditory system during acquisition and reversal discriminative conditioning. *Psychobiology*, 18:382-393.
- Edeline, J.M., Pham, P. y Weinberger, N.M. (1993). Rapid development of learning-induced receptive field plasticity in the auditory cortex. *Behavioral Neuroscience*, 107:539-551.
- Edeline, J.M. y Weinberger, N.M. (1993). Receptive field plasticity in the auditory cortex during frequency discrimination training: Selective retuning independent of task difficulty. *Behavioral Neuroscience*, 107:82-103.
- Edwards, F.A. (1995). Anatomy and electrophysiology of fast central synapses led to a structural model for long-term potentiation. *Physiological Reviews*, 75:759-787.

- Egeth, H.E. y Yantis, S. (1997). Visual attention: control, representation, and time course. *Annual Review of Psychology*, 48:269-297.
- Eggermann, E., Serafin, M., Bayer, L., Machard, M., Saint-Mleux, B., Jones, B.E. y Muhtethaler, M. (2001). Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones. *Neuroscience*, 108:177-181.
- Ernfors, P., Wetmore, C., Olson, L. y Persson, H. (1990). Identification of cells in rat brain and peripheral tissues expressing mRNA for members of the nerve growth factor family. *Neuron*, 5(4):511-526.
- Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annual Reviews of Psychology*, 48:649-684.
- Everitt, B.J., Rudolf, N.D., Hall, J., Parkinson, J.A. y Robbins, T.W. (2000). Differential involvement of amygdala subsystems in appetitive conditioning and drug addiction. En J.P. Aggleton (Ed.). *The Amygdala. A Functional Analysis*. (2nd ed.). New York: Oxford University Press.
- Fadel, J., Sarter, M. y Bruno, J.P. (2001). Basal forebrain glutamatergic modulation of cortical acetylcholine release. *Synapse*, 39(3):201-212.
- Ferreira, G., Gutiérrez, R., De La Cruz, V. y Bermúdez-Rattoni, F. (2002). Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *The European Journal of Neuroscience*, 16(6):1139-1145.
- Fibiger, H.C. (1982). The organization and some projections of cholinergic neurons of the mammalian forebrain. *Brain Research Reviews*, 4:327-388.
- Fine, A., Hoyle, C., Maclean, C.J., Levatte, T.L., Baker, H.F. y Ridley, R.M. (1997). Learning impairments following injection of a selective cholinergic immunotoxin ME20.4 IgG-saporin into the basal nucleus of Meynert in monkeys. *Neuroscience*, 81:331-343.
- Fisher, R.S., Buchwald, N.A., Hull, C.D. y Levine, M.S. (1988). GABAergic basal forebrain neurons project to the neocortex: the localization of glutamic acid decarboxylase and choline acetyltransferase in feline corticopetal neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 272:489-502.

- Fort, P., Khateb, A., Serafin, M., Muhlethaler, M. y Jones, B.E. (1998). Pharmacological characterization and differentiation of non-cholinergic nucleus basalis neurons in vitro. *Neuroreport*, 9(1):61-65.
- Fournier, G.N., Materi, L.M., Semba, K. y Rasmusson, D.D. (2004). Cortical acetylcholine release and electroencephalogram activation evoked by ionotropic glutamate receptor agonists in the rata basal forebrain. *Neuroscience*, 123:785-792.
- Fremeau, R.T.Jr., Troyer, M.D., Pahner, I., Nygaard, G.O., Tran, C.H., Reimer, R.J., Bellocchio, E.E., Fortin, D., Store-Mathisen, J. y Edwards, R.H. (2001). The expresión of vesicular glutamate transporters defines two clases of excitatory synapse. *Neuron*, 31:247-260.
- Freund, T.F. y Gulyás, A.I. (1991). GABAergic interneurons containing calbindin D28K or somatostatin are major targets of GABAergic basal forebrain afferents in the rat neocortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 314(1):187-199.
- Freund, T.F. y Meskenaite, V. (1992). gamma-Aminobutyric acid-containing basal forebrain neurons innervate inhibitory interneurons in the neocortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(2):738-742.
- Gall, C. y Moore, R.Y. (1984). Distribution of enkephalin, substance P, tyrosine hydroxylase, and 5-hydroxytryptamine immunoreactivity in the septal region of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 225(2):212-227.
- Gallagher, M. (2000). The amygdala and associative learning. En J.P. Aggleton (Ed.). *The Amygdala. A Functional Analysis*. (2nd ed.). New York: Oxford University Press.
- Galván, V.V. y Weinberger, N.M. (2002). Long-term consolidation and retention of learning-induced tuning plasticity in the auditory cortex of the guinea pig. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77:78-108.
- Gasbarri, A., Sulli, A., Pacitti, C. y McGaugh, J.L. (1999). Serotonergic input to cholinergic neurons in the substantia innominata and nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Neuroscience*, 91(3):1129-1142.

- Gaykema, R.P., Gaal, G., Traber, J., Hersh, L.B. y Luiten, P.G. (1991). The basal forebrain cholinergic system: efferent and afferent connectivity and long-term effects of lesions. *Acta Psychiatrica Scandinavica. Supplementum*, 366:14-26.
- Gaykema, R.P., Luiten, P.G., Nyakas, C. y Traber, J. (1990). Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *The Journal of Comparative Neurology*, 293(1):103-24.
- Gaykema, R.P. y Zaborszky, L. (1996). Direct catecholaminergic-cholinergic interactions in the basal forebrain. II. Substantia nigra-ventral tegmental area projections to cholinergic neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 374:555-577.
- Gerhardt, P., Hasenöhrl, R.U. y Huston, J.P. (1992). Enhanced learning produced by injection of neurokinin substance P into the region of the nucleus basalis magnocellularis: mediation by the N-terminal sequence. *Experimental Neurology*, 118(3):302-308.
- Geula, C., Schatz, C.R. y Mesulam, M.M. (1993). Differential localization of NADPH-diaphorase and calbindin-D28k within the cholinergic neurons of the basal forebrain, striatum and brainstem in the rat, monkey, baboon and human. *Neuroscience*, 54(2):461-476.
- Ghashghaeie, H.Y. y Barbas, H. (2001). Neural interaction between the basal forebrain and functionally distinct prefrontal cortices in the rhesus monkey. *Neuroscience*, 103(3):593-614.
- Gill, T.M., Sarter, M. y Givens, B. (2000). Sustained visual attention performance-associated prefrontal neuronal activity: evidence for cholinergic modulation. *The Journal of Neuroscience*, 20:4745-4757.
- Givens, B. y Sarter, M. (1997). Modulation of cognitive processes by transsynaptic activation of the basal forebrain. *Behavioural Brain Research*, 84:1-22.
- Gold, P.E. (2003). Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):194-210.
- Gold, P.E., Hankins, L., Edwards, R.M., Chester, J. y McGaugh, J.L. (1975). Memory interference and facilitation with posttrial amygdala stimulation: Effect on memory varies with footshock level. *Brain Research*, 86:509-513.

- Gold, P.E., Macri, J. y McGaugh, J.L. (1973). Retrograde amnesia produced by subseizure amygdale stimulation. *Behavioral Biology*, 9:671-680.
- Golmayo, L., Núñez, A. y Zaborszky, L. (2003). Electrophysiological evidence for the existente of a posterior cortical-prefrontal-basal forebrain circuitry in modulating sensory responses in visual and somatosensory rat cortical areas. *Neuroscience*, 119:597-609.
- González, C.L., Miranda, M.I., Gutiérrez, H., Ormsby, C. y Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Differential participation of the NBM in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion and Morris water maze. *Behavioural Brain Research*, 116(1):89-98.
- Gray, R., Rajan, A.S., Radcliffe, K.A., Yakehiro, M. y Dani, J.A. (1996). Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature*, 383:713-716.
- Gritti, I., Mainville, L. y Jones, B.E. (1993). Codistribution of GABA- with acetylcholine-synthesizing neurons in the basal forebrain of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 329:438-457.
- Gritti, I., Mainville, L. y Jones, B.E. (1994). Projections of GABAergic and cholinergic basal forebrain and GABAergic preoptic-anterior hypothalamic neurons to the posterior lateral hypothalamus of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 339(2):251-268.
- Gritti, I., Mainville, L. y Jones, B.E. (1999). Calcium binding proteins contained in cortically projecting and GABAergic basal forebrain neurons. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 25:1135.
- Gritti, I., Mainville, L., Mancía, M. y Jones, B.E. (1997). GABAergic and others noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 383:163-177.
- Gritti, I., Manns, I.D., Mainville, L. y Jones, B.E. (2003). Parvalbumin, calbindin, or calretinin in cortically projecting and GABAergic, cholinergic, or glutamatergic basal forebrain neurons of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 458(1):11-31.

- Groenewegen, H.J. y Berendse, H.W. (1994). The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in Neurosciences*, 17(2):52-57.
- Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A.M., Martí-Nicolovius, M., Coll-Andreu, M. y Morgado-Bernal, I. (1999). The parafascicular nucleus and two-way active avoidance: effects of electrical stimulation and electrode implantation. *Experimental Brain Research*, 129:605-614.
- Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M. y Morgado-Bernal, I. (1995). Facilitatory and detrimental effects of parafascicular electrical stimulation upon two-way active avoidance conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 63(3):209-212.
- Guillery, R.W., Feig, S.L. y Lozsadi, D.A. (1998). Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends in Neurosciences*, 21:28-32.
- Gutiérrez, H., Gutiérrez, R., Ramírez-Trejo, L., Silva-Gandarias, R., Ormsby, C.E., Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999a). Redundant basal forebrain modulation in taste aversion memory formation. *The Journal of Neuroscience*, 19:7661-7669.
- Gutiérrez, H., Gutiérrez, R., Silva-Gandarias, R., Estrada, J., Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999b). Differential effects of 192IgG-saporin and NMDA-induced lesions into the basal forebrain on cholinergic activity and taste aversion memory formation. *Brain Research*, 834(1-2):136-141.
- Gutiérrez, H., Hernández-Echeagaray, E., Ramírez-Amaya, V. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999c). Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience*, 89(3):751-758.
- Gutiérrez, H., Miranda, M.L. y Bermúdez-Rattoni, F. (1997). Learning impairment and cholinergic deafferentation after cortical nerve growth factor deprivation. *The Journal of Neuroscience*, 17:3796-3803.
- Gutiérrez, R., Tellez, L.A. y Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *The European Journal of Neuroscience*, 17(8):1556-1562.

- Haas, H. y Panula, P. (2003). The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(2):121-130.
- Harkany, T., O'Mahony, S., Kelly, J.P., Soos, K., Toro, I., Penke, B., Luiten, P.G., Nyakas, C., Gulya, K. y Leonard, B.E. (1998). Beta-amyloid(Phe(SO₃H)₂₄)₂₅₋₃₅ in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation. *Behavioural Brain Research*, 90(2):133-145.
- Haroutunian, V., Greig, N., Pei, X.F., Utsuki, T., Gluck, R., Acevedo, L.D., Davis, K.L. y Wallace, W.C. (1997). Pharmacological modulation of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein levels in the CSF of rats with forebrain cholinergic system lesions. *Molecular Brain Research*, 46(1-2):161-168.
- Hars, B., Maho, C., Edeline, J.M. y Hennevin, E. (1993). Basal forebrain stimulation facilitates tone-evoked responses in the auditory cortex of awake rat. *Neuroscience*, 56(1):61-74.
- Harvey, J., Balasubramaniam, R. y Collingridge, G.L. (1993). Carbachol can potentiate N-methyl-D-aspartate responses in the rat hippocampus by a staurosporine and thapsigargin-insensitive mechanism. *Neuroscience Letters*, 162:165-168.
- Hasenöhr, R.U., Frisch, C., Junghans, U., Muller, H.W. y Huston, J.P. (1995). Facilitation of learning following injection of the chondroitin sulfate proteoglycan biglycan into the vicinity of the nucleus basalis magnocellularis. *Behavioural Brain Research*, 70(1):59-67.
- Heckers, S., Ohtake, T., Wiley, R.G., Lappi, D.A., Geula, C., Mesulam, M.M. (1994). Complete and selective cholinergic denervation of rat neocortex and hippocampus but no amygdala by an immunotoxin against the p75 NGF receptor. *The Journal of Neuroscience*, 14:1271-1289.
- Heimer, L., Harlan, R.E., Alheid, G.F., Garcia, M.M. y De Olmos, J. (1997). Substantia innominata: a notion which impedes clinical-anatomical correlations in neuropsychiatric disorders. *Neuroscience*, 76(4):957-1006.
- Henderson, Z. (1997). The projection from the striatum to the nucleus basalis in the rat: an electron microscopic study. *Neuroscience*, 78:943-955.

- Henderson, Z. y Morris, N. (1997). Galanin-immunoreactive synaptic terminals on basal forebrain cholinergic neurons in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 383(1):82-93.
- Henny, P., Manns, I.D., Lee, M.G., Beaudet, A., Fremeau, R.T., Edwards, R.H. y Jones, B.E. (2002). Vesicular transporter proteins for glutamate (VGLUT), as well as for acetylcholine (VACHT) or GABA (VGAT), in terminal varicosities of cortically projecting basal forebrain neurons. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 28:870.14.
- Himmelheber, A.M., Sarter, M. y Bruno, J.P. (1997). Operant performance and cortical acetylcholine release: role of response rate, reward density, and non-contingent stimuli. *Cognitive Brain Research*, 6(1):23-36.
- Himmelheber, A.M., Sarter, M. y Bruno, J.P. (2000). Increases in cortical acetylcholine release during sustained attention performance in rats. *Cognitive Brain Research*, 9(3):313-325.
- Himmelheber, A.M., Sarter, M. y Bruno, P.J. (2001). The effects of manipulations of attentional demand on cortical acetylcholine release. *Cognitive Brain Research*, 12:353-370.
- Hohmann, C.F. (2003). A morphogenetic role for acetylcholine in mouse cerebral neocortex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27:351-363.
- Holland, P.C. y Gallagher, M. (1993). Amygdala central nucleus lesions disrupt increments but not decrements in CS processing. *Behavioral Neuroscience*, 107:246-253.
- Holley, L.A., Turchi, J., Apple, C. y Sarter, M. (1995). Dissociation between the attentional effects of infusions of a benzodiazepine receptor agonist and an inverse agonist into the basal forebrain. *Psychopharmacology (Berl)*, 120(1):99-108.
- Holley, L.A., Wiley, R.G., Lappi, D.A. y Sarter, M. (1994). Cortical cholinergic deafferentation following the intracortical infusion of 192 IgG-saporin: a quantitative histochemical study. *Brain Research*, 663(2):277-286.
- Hopfinger, J.B., Buonocore, M.H. y Mangun, G.R. (2000). The neural mechanisms of top-down attentional control. *Nature Neuroscience*, 3(3):284-291.

- Howard, M.A. y Simons, D.J. (1994). Physiologic effects of nucleus basalis magnocellularis stimulation on rat barrel cortex neurons. *Experimental Brain Research*, 102(1):21-33.
- Hur, E.E., Stornetta, R.L., Guyenet, P.G. y Zaborszky, L. (2002). Distribution of glutamate neurons in the basal forebrain as revealed by the presence of vesicular glutamate transporter (VGLUT2). *Society for Neuroscience. Abstracts*, 28:239.4.
- Hutchinson, K., Sarter, M. y Givens, B. (1996). Single unit activity in medial prefrontal cortex of rats performing an operant vigilance task. *Society for Neuroscience Abstracts*, 22:1388.
- Jakab, R.L. y Leranth, C. (1990). Catecholaminergic, GABAergic, and hippocamposeptal innervation of GABAergic "somatospiny" neurons in the rat lateral septal area. *The Journal of Comparative Neurology*, 302(2):305-321.
- Ji, W., Gao, E. y Suga, N. (2001). Effects of acetylcholine and atropine on plasticity of central auditory neurons caused by conditioning in bats. *Journal of Neurophysiology*, 86:211-225.
- Jiménez-Capdeville, M.E., Dykes, R.W. y Myasnikov, A.A. (1997). Differential control of cortical activity by the basal forebrain in rats: a role for both cholinergic and inhibitory influences. *The Journal of Comparative Neurology*, 381(1):53-67.
- Jodo, E., Chiang, C. y Aston-Jones, G. (1998). Potent excitatory influence of prefrontal cortex activity on noradrenergic locus coeruleus neurons. *Neuroscience*, 83(1):63-79.
- Jones, B.E. (2003). Arousal systems. *Frontiers in Bioscience*, 8:s438-451.
- Jones, B.E. y Cuello, A.C. (1989). Afferents to the basal forebrain cholinergic cell area from pontomesencephalic-catecholamine, serotonin, and acetylcholine- neurons. *Neuroscience*, 31:37-61.
- Jones, B.E. y Mühlethaler, M. (1999). Cholinergic and GABAergic neurons of the basal forebrain: Role in cortical activation. En R. Lydic y H.A. Baghdoyan (Eds.). *The Handbook of Behavioural State Control: Cellular and Molecular Mechanisms*. Boca Raton: CRC Press.

- Jones, M.W., French, P.J., Bliss, T.V. y Rosenblum, K. (1999). Molecular mechanisms of long-term potentiation in the insular cortex in vivo. *The Journal of Neuroscience*, 19:RC36.
- Jourdain, A., Semba, K. y Fibiger, H.C. (1989). Basal forebrain and mesopontine tegmental projections to the reticular thalamic nucleus: an axonal collateralization and immunohistochemical study in the rat. *Brain Research*, 505:55-65.
- Kalat, J.W. (2001). *Biological Psychology*. (7th ed.). Belmont, CA: Thomson Learning, Inc. (p. 99).
- Kapas, L., Obal, F.Jr., Book, A.A., Schweitzer, J.B., Wiley, R.G. y Krueger, J.M. (1996). The effects of immunolesions of nerve growth factor-receptive neurons by 192 IgG-saporin on sleep. *Brain Research*, 712(1):53-59.
- Kapp, B.S., Supple, W.F. y Whalen, P.J. (1994). Effects of electrical stimulation of the amygdaloid central nucleus on neocortical arousal in the rabbit. *Behavioral Neuroscience*, 108(1):81-93.
- Kastner, S. y Ungerleider, L.G. (2000). Mechanisms of visual attention in the human cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23:315-341.
- Kawamoto, Y., Nakamura, S., Kawamata, T., Akiguchi, I. y Kimura, J. (1999). Cellular localization of brain-derived neurotrophic factor-like immunoreactivity in adult monkey brain. *Brain Research*, 821(2):341-349.
- Kilgard, M. (2003). Cholinergic modulation of skill learning and plasticity. *Neuron*, 38(5):678-680.
- Kilgard, M.P. y Merzenich, M.M. (1998). Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science*, 279:1714-1718.
- Kilgard, M.P., Pandya, P.K., Engineer, N.D. y Moucha, R. (2002). Cortical network reorganization guided by sensory input features. *Biological Cybernetics*, 87:333-343.
- Kilgard, M.P., Pandya, P.K., Vázquez, J., Gehi, A., Schreiner, C.E. y Merzenich, M.M. (2001). Sensory input directs spatial and temporal plasticity in primary auditory cortex. *Journal of Neurophysiology*, 86(1):326-338.

- Kisley, M.A. y Gerstein, G.L. (2001). Daily variation and appetitive conditioning-induced plasticity of auditory cortex receptive fields. *The European Journal of Neuroscience*, 13:1993-2003.
- Kiss, J., Patel, A.J. y Freund, T.F. (1990). Distribution of septohippocampal neurons containing parvalbumin or choline acetyltransferase in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 298(3): 362-372.
- Kitchener, P.D. y Diamond, J. (1993). Distribution and colocalization of choline acetyltransferase immunoreactivity and NADPH diaphorase reactivity in neurons within the medial septum and diagonal band of Broca in the rat basal forebrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 335:1-15.
- Kiyaschenko, L.I., Mileykovskiy, B.Y., Maidment, N., Lam, H.A., Wu, M.F., John, J., Peever, J., Siegel, J.M. (2002). Release of hypocretin (orexin) during waking and sleep states. *The Journal of Neuroscience*, 22:5282-5286.
- Klingberg, F. y Klengel, S. (1993). Lesions in four parts of the basal forebrain change basic behaviour in rats. *Neuroreport*, 4:639-642.
- Kolmac, C. y Mitrofanis, J. (1999). Organization of the basal forebrain projection to the thalamus in rats. *Neuroscience Letters*, 272:151-154.
- Kopf, S.R., Buchholzer, M.L., Hilgert, M., Loffelholz, K. y Klein, J. (2001). Glucose plus choline improve passive avoidance behaviour and increase hippocampal acetylcholine release in mice. *Neuroscience*, 103:365-371.
- Kurosawa, M., Sato, A. y Sato, Y. (1989a). Stimulation of the nucleus basalis of Meynert increases acetylcholine release in the cerebral cortex in rats. *Neuroscience Letters*, 98(1):45-50.
- Kurosawa, M., Sato, A. y Sato, Y. (1989b). Well-maintained responses of acetylcholine release and blood flow in the cerebral cortex to focal electrical stimulation of the nucleus basalis of Meynert in aged rats. *Neuroscience Letters*, 100(1-3):198-202.
- Kurosawa, M., Sato, A. y Sato, Y. (1992). Cutaneous mechanical sensory stimulation increases extracellular acetylcholine release in cerebral cortex in anesthetized rats. *Neurochemistry International*, 21(3):423-427.

- Lavoie, B. y Parent, A. (1994). Pedunculo-pontine nucleus in the squirrel monkey: cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *The Journal of Comparative Neurology*, 344:232-241.
- Le Doux, J. (2000). The amygdala and emotion: a view through fear. En J.P. Aggleton (Ed.). *The Amygdala. A Functional Analysis*. (2nd ed.). New York: Oxford University Press.
- Leanza, G., Muir, J., Nilsson, O.G., Wiley, R.G., Dunnett, S.B. y Bjorklund, A. (1996). Selective immunolesioning of the basal forebrain cholinergic system disrupts short-term memory in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 8(7):1535-1544.
- Lee, M.G., Manns, I.D., Alonso, A., Jones, B.E. (2002). Sleep-wake discharge profile of basal forebrain neurons recorded and labeled by the juxtacellular method in head-restrained rats. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 672.674.
- Lehmann, O., Grottick, A.J., Cassel, J.C. y Higgins, G.A. (2003). A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal region. *The European Journal of Neuroscience*, 18:651-666.
- Lehmann, O., Grottick, A.J., Cassel, J.C. y Higgins, G.A. (2003). A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal region. *The European Journal of Neuroscience*, 18(3):651-666.
- Levey, A.I., Hallanger, A.E. y Wainer, B.H. (1987). Cholinergic nucleus basalis neurons may influence the cortex via the thalamus. *Neuroscience Letters*, 74:7-13.
- Linster, C. y Hasselmo, M.E. (2001). Neuromodulation and the functional dynamics of piriform cortex. *Chem Senses*, 26(5):585-594.
- Linster, C., Maloney, M., Patil, M. y Hasselmo, M.E. (2003). Enhanced cholinergic suppression of previously strengthened synapses enables the formation of self-organized representations in olfactory cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):302-314.

- Lo Conte, G., Bartolini, L., Casamenti, F., Marconcini-Pepeu, I. y Pepeu, G. (1982). Lesions of cholinergic forebrain nuclei: changes in avoidance behavior and scopolamine actions. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 17(5):933-937.
- Losier, B.J. y Semba, K. (1993). Dual projections of single cholinergic and aminergic brainstem neurons to the thalamus and basal forebrain in the rat. *Brain Research*, 604:41-52.
- Lucas-Meunier, E., Fossier, P., Baux, G. y Amar, M. (2003). Cholinergic modulation of the cortical neural network. *European Journal of Physiology*, 446:17-29.
- Maho, C., Hars, B., Edeline, J.M. y Hennevin, E. (1995). Conditioned changes in the basal forebrain: Relations with learning-induced cortical plasticity. *Psychobiology*, 23:10-25.
- Manfridi, A., Brambilla, D. y Mancina, M. (1999). Stimulation of NMDA and AMPA receptors in the rat nucleus basalis of Meynert affects sleep. *Am J Physiol*, 277(5 Pt 2):R1488-1492.
- Manns, I.D., Alonso, A. y Jones, B.E. (2000a). Discharge profiles of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified GABAergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats. *The Journal of Neuroscience*, 20:9252-9263.
- Manns, I.D., Alonso, A. y Jones, B.E. (2000b). Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats. *The Journal of Neuroscience*, 20:1505-1518.
- Manns, I.D., Alonso, A. y Jones, B.E. (2003). Rhythmically discharging basal forebrain units comprise cholinergic, GABAergic, and putative glutamatergic cells. *Journal of Neurophysiology*, 89(2):1057-1066.
- Manns, I.D., Mainville, L. y Jones, B.E. (2001). Evidence for glutamate, in addition to acetylcholine and GABA, neurotransmitter synthesis in basal forebrain neurons projecting to the entorhinal cortex. *Neuroscience*, 107:249-263.
- Marrocco, R.T., Witte, E.A., Davidson, M.C. (1994). Arousal systems. *Current Opinion of Neurobiology*, 4(2):166-170.

- Martin, J.H. (1998). *Neuroanatomía*. (2ª ed.). Madrid: Prentice Hall (pp. 61-91, 447-478).
- Martin, S.J., Grimwood, P.D. y Morris, R.G. (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual Review of Neurosciences*, 23:649-711.
- Mason, K.I., Mallet, P.E., Jhamandas, K., Boegman, R.J. y Beninger, R.J. (1999). Nucleus basalis injections of N-methyl-D-aspartate enhance memory of rats in the double Y-maze. *Brain Research Bulletin*, 48(1):65-71.
- Massanés-Rotger, E., Aldavert-Vera, L., Segura-Torres, P., Martí-Nicolovius, M. y Morgado-Bernal, I. (1998). Involvement of the parafascicular nucleus in the facilitative effect of intracranial self-stimulation on active avoidance in rats. *Brain Research*, 808(2):220-231.
- Mayo, W., Dellu, F., Robel, P., Cherkaoui, J., Le Moal, M., Baulieu, E.E. y Simon, H. (1993). Infusion of neurosteroids into the nucleus basalis magnocellularis affects cognitive processes in the rat. *Brain Research*, 607(1-2):324-328.
- Mayo, W. y Simon, H. (1992). GABAergic transmisión and memory: behavioral effects of beta-carboline and neurosteroid injections into the nucleus basalis magnocellularis. *Cahiers de Psychologie Cognitive*, 12(5-6):528-533.
- McCormick, D.A. (1992). Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Progress in Neurobiology*, 39(4):337-388.
- McCormick, D.A. y Bal, T. (1997). Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annual Review of Neuroscience*, 20:185-215.
- McDonald, M.P. y Overmier, J.B. (1998). Present imperfect: A critical review of animal models of the mnemonic impairments in Alzheimer's disease. *Neuroscience of Biobehavioral Reviews*, 22(1):99-120.
- McGaugh J.L. (2002). Memory consolidation and the amygdala: A systems perspective. *Trends in Neurosciences*, 25:456-461.
- McGaugh, J.L., Cahill, L. y Roozendaal, B. (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24):13508-13514.

- McGaugh, J.L. y Gold, P.E. (1976). Modulation of memory by electrical stimulation of the brain. En M.R. Rosenzweig y E.L. Bennett (Eds.). *Neural Mechanisms of Learning and Memory*. Cambridge: MIT Press (pp. 549-560).
- McGaugh, J.L., Introini-Collison, I.B., Cahill, L., Kim, M. y Liang, K.C. (1992). Involvement of the amygdala in neuromodulatory influences on memory storage. En J.P. Aggleton (Ed.). *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Disfunction*. New York: Wiley-Liss (pp. 431-451).
- McGaugh, J.L., McIntyre, C. y Power, A.E. (2002). Amygdala modulation of memory consolidation: Interaction with other brain systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78:539-552.
- McGaughy, J., Dalley, J.W., Morrison, C.H., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (2002). Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasal infusions of 192 IgG-saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. *The Journal of Neuroscience*, 22(5):1905-1913.
- McGaughy, J., Decker, M.W. y Sarter, M. (1999). Enhancement of sustained attention performance by the nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-418 in intact but not basal forebrain-lesioned rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 144:175-182.
- McGaughy, J., Everitt, B.J., Robbins, T.W. y Sarter, M. (2000). The role of cortical cholinergic efferent projections in cognition: Impact of new selective immunotoxins. *Behavioural Brain Research*, 115:251-263.
- McGaughy, J., Kaiser, T. y Sarter, M. (1996). Behavioral vigilance following infusions of 192 IgG-saporin into the basal forebrain: Selectivity of the behavioral impairment and relation to cortical AChE-positive fiber density. *Behavioral Neuroscience*, 110(2):247-265.
- McGaughy, J. y Sarter, M. (1995). Behavioral vigilance in rats: Task validation and effects of age, amphetamine, and benzodiazepine receptor ligands. *Psychopharmacology (Berl)*, 117:340-357.
- McGaughy, J. y Sarter, M. (1998). Sustained attention performance in rats with intracortical infusions of 192 IgG-saporin-induced cortical cholinergic deafferentation: effects of physostigmine and FG 7142. *Behavioral Neuroscience*, 112:1519-1525.

- McIntyre, C.K., Power, A.E., Roozendaal, B. y McGaugh, J.L. (2003). Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. En P. Shinnick-Gallagher, A. Pitkanen, A. Shekhar y L. Cahill (Eds.). *Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 985). *The amygdala in Brain Function: Basic and clinical Approaches* (pp. 1-21).
- McLin III, D.E., Miasnikov, A.A. y Weinberger, N.M. (2002a). Induction of behavioural selective memory by stimulation of the nucleus basalis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99:4002-4007.
- McLin III, D.E., Miasnikov, A.A. y Weinberger, N.M. (2002b). The effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on the electroencephalogram, heart rate, and respiration. *Behavioral Neuroscience*, 116:795-806.
- McLin III, D.E., Miasnikov, A.A. y Weinberger, N.M. (2003). CS-specific gamma, theta, and alpha EEG activity detected in stimulus generalization following induction of behavioural memory by stimulation of the nucleus basalis. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79:152-176.
- Melander, T., Staines, W.A., Hokfelt, T., Rokaeus, A., Eckenstein, F., Salvaterra, P.M. y Wainer, B.H. (1985). Galanin-like immunoreactivity in cholinergic neurons of the septum-basal forebrain complex projecting to the hippocampus of the rat. *Brain Research*, 360(1-2):130-138.
- Mesulam, M.M. (1995a). Cholinergic pathways and the ascending reticular activating system of the human brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 757:169-179.
- Mesulam, M.M. (1995b). Structure and function of cholinergic pathways in the cerebral cortex, limbic system, basal ganglia, and thalamus of the human brain. En F.E. Bloom y D.J. Kupfer (Eds.). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press, Ltd. (pp.135-146).
- Mesulam, M.M. (1995c). The cholinergic contribution to neuromodulation in the cerebral cortex. *Seminars in the Neurosciences*, 7:297-307.
- Mesulam, M.M. (1996). The systems-level organization of cholinergic innervation in the human cerebral cortex and alterations in Alzheimer's disease. *Progress in Brain Research*, 109:285-297.

- Mesulam, M.M. (2004). The cholinergic innervation of the human cerebral cortex. *Progress in Brain Research*, 145:67-78.
- Mesulam, M.M. y Mufson, E.J. (1984). Neural inputs into the nucleus basalis of the substantia innominata (Ch4) in the rhesus monkey. *Brain*, 107(Pt 1):253-74.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. y Levey, A.I. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: An overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, 10:1185-1201.
- Metherate, R. y Ashe, J.H. (1991). Basal forebrain stimulation modifies auditory cortex responsiveness by an action at muscarinic receptors. *Brain Research*, 559:163-167.
- Metherate, R. y Ashe, J.H. (1993). Nucleus basalis stimulation facilitates thalamocortical synaptic transmission in the rat auditory cortex. *Synapse*, 14(2):132-143.
- Metherate, R., Ashe, J.H., Weinberger, N.M. (1990). Acetylcholine modifies neuronal acoustic rate-level functions in guinea pig auditory cortex by an action at muscarinic receptors. *Synapse*, 6(4):364-368.
- Metherate, R., Cox, C.L. & Ashe, J.H. (1992). Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine. *The Journal of Neuroscience*, 12(12):4701-4711.
- Metherate, R., Tremblay, N. y Dykes, R.W. (1987). Acetylcholine permits long-term enhancement of neuronal responsiveness in cat primary somatosensory cortex. *Neuroscience*, 22:75-81.
- Miasnikov, A.A., McLin III, D. y Weinberger, N.M. (2001). Muscarinic dependence of nucleus basalis induced conditioned receptive field plasticity. *Neuroreport*, 12(7):1537-1542.
- Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release on acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96:6478-6482.

- Miranda, M.I., Ferreira, G., Ramírez-Lugo, L. y Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Role of cholinergic system on the construction of memories: Taste memory encoding. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):211-222.
- Miranda, M.I., Ramírez-Lugo, L. y Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Research*, 882:230-235.
- Miyamoto, M., Shintani, M., Nagaoka, A. y Nagawa, Y. (1985). Lesioning of the rat basal forebrain leads to memory impairments in passive and active avoidance tasks. *Brain Research*, 328:97-104.
- Mogenson, G.J., Swanson, L.W. y Wu, M. (1983). Neural projections from nucleus accumbens to globus pallidus, substantia innominata, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *The Journal of Neuroscience*, 3(1):189-202.
- Molchan, S.E., Sunderland, T., McIntosh, A.R., Herscovitch, P. y Schreurs, B.G. (1994). A functional anatomical study of associative learning in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91:8122-8126.
- Morgado-Bernal, I. (1997). Facilitación del aprendizaje y la memoria: Sueño paradójico y autoestimulación eléctrica cerebral. En A.F. Mora (Ed.). *El Cerebro Íntimo*. Barcelona: Ariel (pp. 153-164).
- Morin, A.J. y Beaudet, A. (1998). Origin of the neurotensinergic innervation of the rat basal forebrain studied by retrograde transport of cholera toxin. *The Journal of Comparative Neurology*, 391:30-41.
- Morón, I., Ramírez-Lugo, L., Ballesteros, M.A., Gutiérrez, R., Miranda, M.I., Gallo, M. y Bermúdez-Rattoni, F. (2002). Differential effects of bicuculline and muscimol microinjections into the nucleus basalis magnocellularis in taste and place aversive memory formation. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2):425-431.
- Morris, J.S., Friston, K.J. y Dolan, R.J. (1998). Experience-dependent modulation of tonotopic neural responses in human auditory cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 265:649-657.

- Mufson, E.J., Deecher, D.C., Basile, M., Izenwasse, S. y Mash, D.C. (2000). Galanin receptor plasticity within the nucleus basalis in early and late Alzheimer's disease: and in vitro autoradiographic analysis. *Neuropharmacology*, 39:1404-1412.
- Muir, J.L. (1996). Attention and stimulus processing in the rat. *Cognitive Brain Research*, 3(3-4):215-225.
- Muir, J.L., Dunnett, S.B., Robbins, T.W. y Everitt, B.J. (1992a). Attentional functions of the forebrain cholinergic systems: effects of intraventricular hemicholinium, physostigmine, basal forebrain lesions and intracortical grafts on a multiple-choice serial reaction time task. *Experimental Brain Research*, 89(3):611-622.
- Muir, J.L., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1994). AMPA-induced excitotoxic lesions of the basal forebrain: a significant role for the cortical cholinergic system in attentional function. *The Journal of Neuroscience*, 14(4):2313-2326.
- Muir, J.L., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1995). Reversal of visual attentional dysfunction following lesions of the cholinergic basal forebrain by physostigmine and nicotine but not by the 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron. *Psychopharmacology (Berl)*, 118(1):82-92.
- Muir, J.L., Robbins, T.W. y Everitt, B.J. (1992b). Disruptive effects of muscimol infused into the basal forebrain on conditional discrimination and visual attention: differential interactions with cholinergic mechanisms. *Psychopharmacology (Berl)*, 107(4):541-550.
- Nadal, R., Armario, A., Gill, T.M. y Janak, P.H. (2001). Neural correlates of the acquisition and extinction of instrumental conditioning recorded from the basal forebrain in rats. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 27:537.
- Nagai, T., Kimura, H., Maeda, T., McGeer, P.L., Peng, F. y McGeer, E.G. (1982). Cholinergic projections from the basal forebrain of rat to the amygdale. *The Journal of Neuroscience*, 2:514-520.
- Nakamura, S. y Ishihara, T. (1990). Task-dependent memory loss and recovery following unilateral nucleus basalis lesion: Behavioral and neurochemical correlation. *Behavioural Brain Research*, 29:113-122.

- Nambu, T., Sakurai, T., Mizukami, K., Hosoya, Y., Yanagisawa, M. y Goto, K. (1999). Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Research*, 827:243-260.
- Naor, C. y Dudai, Y. (1996). Transient impairment of cholinergic function in the rat insular cortex disrupts the encoding of taste in conditioned taste aversion. *Behavioural Brain Research*, 79(1-2):61-67.
- Napier, T.C., Mitrovic, I., Churchill, L., Klitenick, M.A., Lu, X.Y. y Kalivas, P.W. (1995). Substance P in the ventral pallidum: projection from the ventral striatum, and electrophysiological and behavioral consequences of pallidal substance P. *Neuroscience*, 69(1):59-70.
- Nelson, C.L., Sarter, M. y Bruno, J.P. (2002). Glutamatergic or cholinergic stimulation of the medial prefrontal cortex increases acetylcholine release in the posterior parietal cortex. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 28:674-677.
- Nielson, K.A., Radtke, R. y Jensen, R.A. (1996). Arousal-induced modulation of memory storage processes in humans. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66:133-142.
- Nieto-Escámez, F.A., Sánchez-Santed, F. y de Bruin, J.P. (2002). Cholinergic receptor blockade in prefrontal cortex and lesions of the nucleus basalis: implications for allocentric and egocentric spatial memory in rats. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2):93-112.
- Nieto-Escámez, F.A., Sánchez-Santed, F. y de Bruin, J.P. (2004). Pretraining or previous non-spatial experience improves spatial learning in the Morris water maze of nucleus basalis lesioned rats. *Behavioural Brain Research*, 148:55-71.
- Núñez, A. (1996). Unit activity of rat basal forebrain neurons: relationship to cortical activity. *Neuroscience*, 72(3):757-766.
- O'Meara, G., Coumis, U., Ma, S.Y., Kehr, J., Mahoney, S., Bacon, A., Allen, S.J., Holmes, F., Kahl, U., Wang, F.H., Kearns, I.R., Ove-Ogren, S., Dawbarn, D., Mufson, E.J., Davies, C., Dawson, G. y Wynick, D. (2000). Galanin regulates the postnatal survival of a subset of basal forebrain cholinergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(21):11569-11574.

- Ogasawara, T., Itoh, Y., Tamura, M., Mushiroi, T., Ukai, Y., Kise, M. y Kimura, K. (1999). Involvement of cholinergic and GABAergic systems in the reversal of memory disruption by NS-105, a cognition enhancer. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 64(1):41-52.
- Oh, J.D., Edwards, R.H. y Woolf, N.J. (1996). Choline acetyltransferase mRNA plasticity with Pavlovian conditioning. *Experimental Neurology*, 140:95-99.
- Ohara, T., Tanaka, K., Fukaya, H., Demura, N., Imura, A. y Seno, N. (1997). SDZ ENA 713 facilitates central cholinergic function and ameliorates spatial memory impairment in rats. *Behavioural Brain Research*, 83(1-2):229-233.
- Orsetti, M., Casamenti, F. y Pepeu, G. (1996). Enhanced acetylcholine release in the hippocampus and cortex, during acquisition of an operant behavior. *Brain Research*, 724(1):89-96.
- Orsetti, M., Dellarole, A., Ferri, S. y Ghi, P. (2003). Acquisition, retention, and recall of memory after injection of RS67333, a 5-HT(4) receptor agonist, into the nucleus basalis magnocellularis of the rat. *Learning and Memory*, 10(5):420-426.
- Orsetti, M., Ferretti, C., Gamalero, R. y Ghi, P. (2002). Histamine H3-receptor blockade in the rat nucleus basalis magnocellularis improves place recognition memory. *Psychopharmacology (Berl)*, 159(2):133-137.
- Pallarés, M., Darnaudery, M., Day, J., Le Moal, M. y Mayo, W. (1998). The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the nucleus basalis increases both acetylcholine release in the frontal cortex or amygdala and spatial memory. *Neuroscience*, 87(3):551-558.
- Pang, K., Williams, M.J., Egeth, H. y Olton, D.S. (1993). Nucleus basalis magnocellularis and attention: effects of muscimol infusions. *Behavioral Neuroscience*, 107(6):1031-1038.
- Paré, D. (2003). Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Progress in Neurobiology*, 70(5):409-420.
- Parent, A., Pare, D., Smith, Y. y Steriade, M. (1988). Basal forebrain cholinergic and noncholinergic projections to the thalamus and brainstem in cats and monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*, 277:281-301.

- Parker, A., Easton, A. y Gaffan, D. (2002). Memory encoding in the primate brain: The role of the basal forebrain. En: A. Parker, E.L. Wilding y T.J. Bussey (Eds.). *The Cognitive Neuroscience of Memory Encoding and Retrieval*. New York: Psychology Press (pp. 151-172).
- Passetti, F., Dalley, J.W., O'Connell, M.T., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (2000). Increased acetylcholine release in the rat medial prefrontal cortex during performance of a visual attentional task. *The European Journal of Neuroscience*, 12(8):3051-3058.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1997). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (3rd ed.). San Diego: Academic Press.
- Peng, Z.C., Chen, S., Bertini, G., Schmidt, H.H.H.W. y Bentivoglio, M. (1994). Co-localization of nitric oxide synthase and NGF receptor in neurons in the medial septal and diagonal band nuclei of the rat. *Neuroscience Letters*, 166:153-156.
- Pepeu, G. y Giovannini, M.G. (2004). Changes in acetylcholine extracellular levels during cognitive processes. *Learning and Memory*, 11(1):21-27.
- Perry, T., Hodges, H. y Gray, J.A. (2001). Behavioural, histological and immunocytochemical consequences following 192 IgG-saporin immunolesions of the basal forebrain cholinergic system. *Brain Research Bulletin*, 54(1):29-48.
- Peyron, C., Tighe, D.K., van den Pol., A.N., de Lecea, L., S  ller, H.C., Sutcliffe, J.G. y Kilduff, T.S. (1998). Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *The Journal of Neuroscience*, 18:9996-10015.
- Pizzo, D.P., Thal, L.J. y Winkler, J. (2002). Mnemonic deficits in animals depend upon the degree of cholinergic deficit and task complexity. *Experimental Neurobiology*, 177:292-305.
- Planas, B., Kolb, P.E., Raskind, M.A. y Miller, M.A. (1997). Nerve growth factor induces galanin gene expression in the rat basal forebrain: implications for the treatment of cholinergic dysfunction. *The Journal of Comparative Neurology*, 379(4):563-570.
- Popovic, M., Jovanova-Nesic, K., Popovic, N., Bokonjic, D., Dobric, S., Rosic, N. y Rakic, L. (1996). Behavioral and adaptive status in an experimental model of Alzheimer's disease in rats. *The International Journal of Neuroscience*, 86(3-4):281-299.

- Popovic, M., Popovic, N., Jovanova-Nesic, K., Bokonjic, D., Dobric, S., Kostic, V.S. y Rosic, N. (1997). Effect of physostigmine and verapamil on active avoidance in an experimental model of Alzheimer's disease. *The International Journal of Neuroscience*, 90(1-2):87-97.
- Portas, C.M., Rees, G., Howseman, A.M., Josephs, O., Turner, R. y Frith, C.D. (1998). A specific role for the thalamus in mediating the interaction of attention and arousal in humans. *The Journal of Neuroscience*, 18(21):8979-8989.
- Poulin, A. y Semba, K. (2002). Immunohistochemical analysis of localizations of vesicular glutamate transporters 1 and 2 and vesicular acetylcholine transporter in the rat cortex and basal forebrain. *Society for Neuroscience. Abstracts*, 28:35.5.
- Power, A.E. y McGaugh, J.L. (2002a). Cholinergic activation of the basolateral amygdala regulates unlearned freezing behavior in rats. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2):307-315.
- Power, A.E. y McGaugh, J.L. (2002b). Phthalic acid amygdalopetal lesion of the nucleus basalis magnocellularis induces reversible memory deficits in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77:372-388.
- Power, A.E., Thal, L.J. y McGaugh, J.L. (2002). Lesions of the nucleus basalis magnocellularis induced by 192 IgG-saporin block memory enhancement with posttraining norepinephrine in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(4):2315-2319.
- Power, A.E., Vazdarjanova, A. y McGaugh, J.L. (2003). Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):178-193.
- Privou, C., Li, J.S., Hasenöhr, R.U. y Huston, J.P. (1999). Enhanced learning by posttrial injection of H1-but not H2-histaminergic antagonists into the nucleus basalis magnocellularis region. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71(3):308-324.
- Ramírez-Lugo, L., Miranda, M.I., Escobar, M.L., Espinosa, E. y Bermúdez-Rattoni, F. (2003). The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79(2):184-193.
- Ranganath, C. y Rainer, G. (2003). Neural mechanisms for detecting and remembering novel events. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(3):193-202.

- Rasmusson, D.D. (2000). The role of acetylcholine in cortical synaptic plasticity. *Behavioural Brain Research*, 115:205-218.
- Rasmusson, D.D., Clow, K. y Szerb, J.C. (1992). Frequency-dependent increase in cortical acetylcholine release evoked by stimulation of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Brain Research*, 594:150-154.
- Rasmusson, D.D., Clow, K. y Szerb, J.C. (1994). Modification of neocortical acetylcholine release and electroencephalogram desynchronization due to brainstem stimulation by drugs applied to the basal forebrain. *Neuroscience*, 60:665-677.
- Rasmusson, D.D. y Dykes, R.W. (1988). Long-term enhancement of evoked potentials in cat somatosensory cortex produced by co-activation of the basal forebrain and cutaneous receptors. *Experimental Brain Research*, 70(2):276-286.
- Rasmusson, D.D., Szerb, J.C. y Jordan, J.L. (1996). Differential effects of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid and N-methyl-D-aspartate receptor antagonists applied to the basal forebrain on cortical acetylcholine release and electroencephalogram desynchronization. *Neuroscience*, 72(2):419-427.
- Ray, P.G. y Jackson, W.J. (1991). Lesions of nucleus basalis alter ChAT activity and EEG in rat frontal neocortex. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 79(1):62-68.
- Recanzone, G.H., Schreiner, C.E. y Merzenich, M.M. (1993). Plasticity in the frequency representation of primary auditory cortex following discrimination training in adult owl monkeys. *The Journal of Neuroscience*, 13:87-103.
- Redolar-Ripoll, D., Aldavert-Vera, L., Soriano-Mas, C., Segura-Torres, P. y Morgado-Bernal, I. (2002). Intracranial self-stimulation facilitates memory consolidation, but not retrieval: its effects are more effective than increased training. *Behavioural Brain Research*, 129(1-2):65-75.
- Reiner, P.B. y Fibiger, H.C. (1995). Functional heterogeneity of central cholinergic systems. En Floyd E. Bloom y David J. Kupfer (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press, Ltd. (pp. 147-153).
- Ridley, R.M., Barefoot, H.C., Maclean, C.J., Pugh, P. y Baker, H.F. (1999). Different effects on learning ability after injection of the cholinergic immunotoxin ME20.4IgG-

saporin into the diagonal band of Broca, basal nucleus of Meynert, or both in monkeys. *Behavioral Neuroscience*, 113(2):303-315.

Riekkinen, P.Jr., Riekkinen, M., Sirviö, J., Miettinen, R. y Riekkinen, P. (1992). Loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis induces neocortical electroencephalographic and passive avoidance deficits. *Neuroscience*, 47(4):823-831.

Riekkinen, P.Jr., Sirviö, J., Jäkälä, P., Mazurkiewicz, M., Valjakka, A., Riekkinen, M. y Riekkinen, P. (1991a). Increased GABAergic transmission aggravates nucleus basalis magnocellularis lesion-induced behavioral deficits. *Brain Research Bulletin*, 27(2):287-289.

Riekkinen, P.Jr., Sirviö, J., Riekkinen, M. y Riekkinen, P. (1991b). Effects of THA on passive avoidance retention performance of intact, nucleus basalis, frontal cortex and nucleus basalis + frontal cortex-lesioned rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 39(4):841-846.

Riekkinen, P.Jr., Sirviö, J. y Riekkinen, P. (1990a). Relationship between the cortical choline acetyltransferase content and EEG delta-power. *Neuroscience Research*, 8(1):12-20.

Riekkinen, P.Jr., Sirviö, J. y Riekkinen, P. (1990b). Similar memory impairments found in medial septal-vertical diagonal band of Broca and nucleus basalis lesioned rats: are memory defects induced by nucleus basalis lesions related to the degree of non-specific subcortical cell loss? *Behavioural Brain Research*, 37(1):81-88.

Risbrough, V., Bontempi, B. y Menzaghi, F. (2002). Selective immunolesioning of the basal forebrain cholinergic neurons in rats: effect on attention using the 5-choice serial reaction time task. *Psychopharmacology (Berl)*, 164(1):71-81.

Robbins, T. W. (1997). Arousal systems and attentional processes. *Biological Psychology*, 45:57-71.

Robbins, T.W. (1998). Arousal and attention: Psychopharmacological and neuropsychological studies in experimental animals. En R. Parasuraman (Ed.). *The Attentive Brain*. Cambridge: MIT Press (pp. 189-220).

- Robbins, T.W. (2002). The 5-choice serial reaction time task: Behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology (Berl)*, 163(3-4):362-380.
- Robbins, T.W. y Everitt, B.J. (2003). Motivation and Reward. En: L.R. Squire, F.E. Bloom, S.K. McConnell, J.L. Roberts, N.C. Spitzer y M.J. Zigmond (Eds.). *Fundamental Neuroscience*. San Diego: Academic Press (pp. 1109-1126).
- Robbins, T.W., Everitt, B.J., Marston, H.M., Wilkinson, J., Jones, G.H. y Page, K.J. (1989). Comparative effects of ibotenic acid- and quisqualic acid-induced lesions of the substantia innominata on attentional function in the rat: further implications for the role of the cholinergic neurons of the nucleus basalis in cognitive processes. *Behavioural Brain Research*, 35(3):221-240.
- Robbins, T.W., McAlonan, G., Muir, J.L. y Everitt, B.J. (1997). Cognitive enhancers in theory and practice: studies of the cholinergic hypothesis of cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 83(1-2):15-23.
- Samuel, W., Terry, R.D., DeTeresa, R., Butters, N. y Masliah, E. (1994). Clinical correlates of cortical and nucleus basalis pathology in Alzheimer dementia. *Archives of Neurology*, 51:772:778.
- Santucci, A.C. y Haroutunian, V. (2004). *p*-Chloroamphetamine blocks physostigmine-induced memory enhancement in rats with unilateral nucleus basalis lesions. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 77:59-67.
- Santucci, A.C. y Pérez, S. (2002). Multiple injections of thyrotropin releasing hormone fail to reverse learning and memory deficits in rats with lesions of the nucleus basalis of meynert. *Behavioural Brain Research*, 136(2):433-438.
- Sara, S., Roullet, P. y Przybyslawski, J. (1999). Consolidation of memory for odor-reward association: β -adrenergic receptor involvement in the late phase. *Learning and Memory*, 6:88-96.
- Sarter, M. y Bruno, J.P. (1997). Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying hypothesis. *Brain Research Reviews*, 23(1-2):28-46.
- Sarter, M. y Bruno, J.P. (2000). Cortical cholinergic inputs mediating arousal, attentional processing and dreaming: differential afferent regulation of the basal forebrain by telencephalic and brainstem afferents. *Neuroscience*, 95(4):933-952.

- Sarter, M. y Bruno, J.P. (2002). The neglected constituent of the basal forebrain corticopetal projection system: GABAergic projections. *The European Journal of Neuroscience*, 15(12):1867-1873.
- Sarter, M., Bruno, J.O. y Givens, B. (2003). Attentional functions of cortical cholinergic inputs: What does it mean for learning and memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):245-256.
- Sarter, M., Givens, B. y Bruno, J.P. (2001). The cognitive neuroscience of sustained attention: Where top-down meets bottom-up. *Brain Research Reviews*, 35:146-160.
- Sassin, I., Schultz, C., Thal, D.R., Rüb, U., Arai, K., Braak, E. y Braak, H. (2000). Evolution of Alzheimer's disease-related cytoskeletal changes in the basal nucleus of Meynert. *Acta Neuropathologica*, 100:259-269.
- Sato A., Sato, Y. y Uchida, S. (2002). Regulation of cerebral cortical blood flow by the basal forebrain cholinergic fibers and aging. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 96:13-19.
- Satorra-Marín, N., Coll-Andreu, M., Portell-Cortés, I., Aldavert-Vera, L. y Morgado-Bernal, I. (2001). Impairment of two-way active avoidance after pedunculo-pontine tegmental nucleus lesions: effects of conditioned stimulus duration. *Behavioural Brain Research*, 118(1):1-9.
- Schafer, M.K., Eiden, L.E. y Weihe, E. (1998). Cholinergic neurons and terminal fields revealed by immunohistochemistry for the vesicular acetylcholine transporter. II. The peripheral nervous system. *Neuroscience*, 84(2):361-376.
- Schreurs, B.G., McIntosh, A.R., Bahro, M., Herscovitch, P., Sunderland, T. y Molchan, S.E. (1997). Lateralization and behavioral correlation of changes in regional cerebral blood flow with classical conditioning of the human eyeblink response. *Journal of Neurophysiology*, 77:2153-2163.
- Schultz, W. (2000). Multiple reward signals in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 1:199-207.
- Schultz, W. y Dickinson, A. (2000). Neuronal coding of prediction errors. *Annual Review of Neuroscience*, 23:473-500.

- Schwegler, H. y Lipp, H.P. (1981). Is there a correlation between hippocampal mossy fiber distribution and two-way avoidance performance in mice and rats? *Neuroscience Letters*, 23(1):25-30.
- Schwegler, H., Lipp, H.P., Van der Loos, H. y Buselmaier, W. (1981). Individual hippocampal mossy fiber distribution in mice correlates with two-way avoidance performance. *Science*, 214(4522):817-819.
- Segura-Torres, P., Capdevila-Ortiz, L., Martí-Nicolovius, M. y Morgado-Bernal, I. (1988). Improvement of shuttle-box learning with pre- and post-trial intracranial self-stimulation in rats. *Behavioural Brain Research*, 29(1-2):111-117.
- Segura-Torres, P., Portell-Cortés, I. y Morgado-Bernal, I. (1991). Improvement of shuttle-box avoidance with post-training intracranial self-stimulation, in rats: a parametric study. *Behavioural Brain Research*, 42(2):161-167.
- Semba, K. (2000). Multiple output pathways of the basal forebrain: Organization, chemical heterogeneity, and roles in vigilance. *Behavioural Brain Research*, 115:117-141.
- Semba, K. y Fibiger, H.C. (1989). Organization of central cholinergic systems. En A. Nordberg, K. Fuxe, B. Holmstedt y A. Sundwall (Eds.). *Progress in Brain Research*. (Vol. 79). Amsterdam: Elsevier (pp. 37-63).
- Semba, K. y Fibiger, H.C. (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculo-pontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 323(3):387-410.
- Semba, K., Reiner, P.B., McGeer, E.G. y Fibiger, H.C. (1988). Brainstem afferents to the magnocellular basal forebrain studied by axonal transport, immunohistochemistry, and electrophysiology in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 267:433-453.
- Senut, M.C., Menetrey, D. y Lamour, Y. (1989). Cholinergic and peptidergic projections from the medial septum and the nucleus of the diagonal band of Broca to dorsal hippocampus, cingulate cortex and olfactory bulb: a combined wheatgerm agglutinin-aphorseradish peroxidase-gold immunohistochemical study. *Neuroscience*, 30(2):385-403.

- Sherman, S.M. y Guillery, R.W. (2001). *Exploring the Thalamus*. London: Academic Press.
- Sillito, A.M. (1993). The cholinergic neuromodulatory system: an evaluation of its functional roles. *Progress in Brain Research*, 98:371-378.
- Smith, M.L., Hale, B.D. y Booze, R.M. (1994). Calbindin-D28k immunoreactivity within the cholinergic and GABAergic projection neurons of the basal forebrain. *Experimental Neurology*, 130(2):230-236.
- Soriano-Mas, C. (2002). Facilitació de l'aprenentatge i la memòria per AEIC: envelliment i memòria declarativa. Tesis doctoral inédita. Facultat de Psicologia, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Sos-Hinojosa, H., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Nadal, R., Morgado-Bernal, I. y Martí-Nicolóvius, M. (2003). Parafascicular electrical stimulation attenuates nucleus basalis magnocellularis lesion-induced active avoidance retention deficit. *Behavioural Brain Research*, 144(1-2):37-48.
- Sos-Hinojosa, H., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Martí-Nicolóvius, M., Nadal-Alemany, R. y Morgado-Bernal, I. (2000). Differential effects of parafascicular electrical stimulation on active avoidance depending on the retention time, in rats. *Brain Research Bulletin*, 52(5):419-426.
- Steckler, T., Andrews, J.S., Marten, P. y Turner, J.D. (1993). Effects of NBM lesions with two neurotoxins on spatial memory and autoshaping. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 44(4):877-889.
- Steiner, R.A., Hohmann, J.G., Holmes, A., Wrenn, C.C., Cadd, G., Jureus, A., Clifton, D.K., Luo, M., Gutshall, M., Ma, S.Y., Mufson, E.J. y Crawley, J.N. (2001). Galanin transgenic mice display cognitive and neurochemical deficits characteristic of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(7):4184-4189.
- Steininger, T.L., Alam, M.N., Gong, H., Szymusiak, R. y McCormick, D. (1999). Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamus of the albino rat. *Brain Research*, 840:138-147.

- Steininger, T.L., Rye, D.B. y Wainer, B.H. (1992). Afferent projections to the cholinergic pedunculo-pontine tegmental nucleus and adjacent midbrain extrapyramidal area in the albino rat. I. Retrograde tracing studies. *The Journal of Comparative Neurology*, 321(4):515-543.
- Steriade, M. (1996). Arousal: Revisiting the reticular activating system. *Science*, 272:225-226.
- Steriade, M. (2000). Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience*, 101(2):243-276.
- Steriade, M. (2004). Acetylcholine systems and rhythmic activities during the waking-sleep cycle. *Progress in Brain Research*, 145:179-196.
- Steriade, M., Jones, E.G., McCormick, D.A. (1997). *Thalamus Organisation and Function*. (Vol.1). New York: Elsevier.
- Steriade, M. y McCarley, R.W. (1990). *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep*. New York: Plenum Press.
- Steriade, M., MC Cormick, D.A. y Sejnowski, T.J. (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*, 262:679-685.
- Steriade, M., Parent, A., Pare, D. y Smith, Y. (1987). Cholinergic and non-cholinergic neurons of the cat basal forebrain project to reticular and mediodorsal thalamic nuclei. *Brain Research*, 408:372-376.
- Stewart, D.J., MacFabe, D.F. y Vanderwolf, C.H. (1984). Cholinergic activation of the electrocorticogram: role of the substantia innominata and effects of atropine and quinuclidinyl benzilate. *Brain Research*, 322(2):219-232.
- Strecker, R.E., Morairty, S., Thakkar, M.M., Porkka-Heiskanen, T., Basheer, R., Dauphin, L.J., Rainnie, D.G., Portas, C.M., Greene, R.W. y McCarley, R.W. (2000). Adenosinergic modulation of basal forebrain and preoptic/anterior hypothalamic neuronal activity in the control of behavioral state. *Behavioural Brain Reserach*, 115(2):183-204.
- Szymusiak, R. (1995). Magnocellular nuclei of the basal forebrain: substrates of sleep and arousal regulation. *Sleep*, 18:478-500.

- Szymusiak, R., Alam, N. y McGinty, D. (2000). Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during waking and sleep. *Behavioural Brain Research*, 115:171-182.
- Szymusiak, R., McGinty, D., Shouse, M.N., Shepard, D. y Serman, M.B. (1990). Effects of systemic atropine sulfate administration on the frequency content of the cat sensorimotor EEG during sleep and waking. *Behavioral Neuroscience*, 104(1):217-225.
- Szymusiak, R., Mye, T. y McGinty, D. (1989). Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamic area of cats. *Brain Research Bulletin*, 23:111-120.
- Tomimoto, H., Kamo, H., Kameyama, M., McGeer, P.L. y Kimura, H. (1987). Descending projections to the basal forebrain in the rat demonstrated by the anterograde neural tracer *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (PHA-L). *Brain Research*, 425:248-255.
- Tong, X.K. y Hamel, E. (2000). Basal forebrain nitric oxide synthase (NOS)-containing neurons project to microvessels and NOS neurons in the rat neocortex: cellular basis for cortical blood flow regulation. *The European Journal of Neuroscience*, 12(8):2769-2780.
- Torres, E.M., Perry, T.A., Blockland, A., Wilkinson, L.S., Wiley, R.G., Lappi, D.A. y Dunnet, S.B. (1994). Behavioural, histochemical and biochemical consequences of selective immunolesions in discrete regions of the basal forebrain cholinergic system. *Neuroscience*, 63(1):95-122.
- Tremblay, N., Warren, R.A. y Dykes, R.W. (1990). Electrophysiological studies of acetylcholine and the role of the basal forebrain in the somatosensory cortex of the cat. II. Cortical neurons excited by somatic stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 64(4):1212-1222.
- Turchi, J. y Sarter, M. (1997). Cortical acetylcholine and processing capacity: effects of cortical cholinergic deafferentation on crossmodal divided attention in rats. *Cognitive Brain Research*, 6(2):147-158.
- Turchi, J. y Sarter, M. (2000). Cortical cholinergic inputs mediate processing capacity: effects of 192 IgG-saporin-induced lesions on olfactory span performance. *The European Journal of Neuroscience*, 12(12):4505-4514.

- Turchi, J. y Sarter, M. (2001a). Antisense oligodeoxynucleotide-induced suppression of basal forebrain NMDA-NR1 subunits selectively impairs visual attentional performance in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 14:103-117.
- Turchi, J. y Sarter, M. (2001b). Bidirectional modulation of basal forebrain N-methyl-D-aspartate receptor function differentially affects visual attention but not visual discrimination performance. *Neuroscience*, 104:407-417.
- Vale-Martínez, A., Baxter, M.G. y Eichenbaum, H. (2002a). Selective lesions of basal forebrain cholinergic neurons produce anterograde and retrograde deficits in a social transmission of food preference task in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 16:983-998.
- Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Martí-Nicolovius, M., Nadal, R., Arévalo-García, R. y Morgado-Bernal, I. (2002b). Electrolytic and ibotenic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention, but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Experimental Brain Research*, 142(1):52-66.
- Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G. y Morgado-Bernal, I. (1998). Differential site-specific effects of parafascicular stimulation on active avoidance in rats. *Behavioural Brain Research*, 93(1-2):107-118.
- Van der Zee, E.A. y Luiten, P.G. (1994). Cholinergic and GABAergic neurons in the rat medial septum express muscarinic acetylcholine receptors. *Brain Research*, 652(2):263-272.
- Vaucher, E., Borredon, J., Seylaz, J. y Lacombe, P. (1995). Autoradiographic distribution of cerebral blood flow increases elicited by stimulation of the nucleus basalis magnocellularis in the unanesthetized rat. *Brain Research*, 691(1):57-68.
- Vazdarjanova, A. y McGaugh, J.L. (1999). Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 19(15):6615-6622.
- Verdier, D. y Dykes, R.W. (2001). Long-term cholinergic enhancement of evoked potentials in rat hindlimb somatosensory cortex displays characteristics of long-term potentiation. *Experimental Brain Research*, 137(1):71-82.

- Vnek, N., Kromer, L.F., Wiley, R.G. y Rothblat, L.A. (1996). The basal forebrain cholinergic system and object memory in the rat. *Brain Research*, 710(1-2):265-270.
- Voytko, M.L. (1996). Cognitive functions of the basal forebrain cholinergic system in monkeys: memory or attention? *Behavioural Brain Research*, 75(1-2):13-25.
- Voytko, M.L., Olton, D.S., Richardson, R.T., Gorman, L.K., Tobin, J.R. y Price, D.L. (1994). Basal forebrain lesions in monkeys disrupt attention but not learning and memory. *The Journal of Neuroscience*, 14(1):167-186.
- Waite, J.J. y Thal, L.J. (1996). Lesions of the cholinergic nuclei in the rat basal forebrain: excitotoxins vs. an immunotoxin. *Life Sciences*, 58(22):1947-1953.
- Waite, J.J., Wardlow, M.L. y Power, A.E. (1999). Deficit in selective and divided attention associated with cholinergic basal forebrain immunotoxic lesion produced by 192-saporin; motoric/sensory deficit associated with Purkinje cell immunotoxic lesion produced by OX7-saporin. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71(3):325-352.
- Walker, L.C., Price, D.L. y Young, W.S. (1989). GABAergic neurons in the primate basal forebrain magnocellular complex. *Brain Research*, 499:188-192.
- Walsh, T.J., Gandhi, C. y Stackman, R.W. (1998). Reversible inactivation of the medial septum or nucleus basalis impairs working memory in rats: a dissociation of memory and performance. *Behavioral Neuroscience*, 112(5):1114-1124.
- Webster, H.H., Rasmusson, D.D., Dykes, R.W., Schliebs, R., Schober, W., Bruckner, G. y Biesold, D. (1991). Long-term enhancement of evoked potentials in raccoon somatosensory cortex following co-activation of the nucleus basalis of Meynert complex and cutaneous receptors. *Brain Research*, 545(1-2):292-296.
- Weese, G.D., Phillips, D.M. y Brown, V.J. (1999). Attentional orienting is impaired by unilateral lesions of the thalamic reticular nucleus in the rat. *The Journal of Neuroscience*, 19:10135-10139.
- Weinberger, N.M. (1995). Dynamic regulation of receptive fields and maps in the adult sensory cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 18:129-158.

- Weinberger, N.M. (1998). Tuning the brain by learning and by stimulation of the nucleus basalis. *Trends in Cognitive Sciences*, 2(8):271-273.
- Weinberger, N.M. (2003). The nucleus basalis and memory code: Auditory cortical plasticity and the induction of specific, associative behavioral memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3):268-284.
- Weinberger, N.M., Ashe, J.H., Metherate, R., McKenna, T.M., Diamond, D.M., Bakin, J.S., Lennartz, R.C. y Cassady, J.M. (1990). Neural adaptative information processing: A preliminary model of receptive field plasticity in auditory cortex during Pavlovian conditioning. En M. Gabriel y J. Moore (Eds.). *Neurocomputation and Learning: Foundations of Adaptive Networks*. Cambridge: Bradford Books/MIT Press.
- Weinberger, N.M., Javid, R. y Lapan, B. (1993). Long-term retention of learning-induced receptive field plasticity in the auditory cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90:2394-2398.
- Wenk, G.L. (1997). The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: One hundred years of progress. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67:85-95.
- Wenk, G.L., Stoehr, J.D., Quintana, G., Mobley, S. y Wiley, R.G. (1994). Behavioral, biochemical, histological, and electrophysiological effects of 192 IgG-saporin injections into the basal forebrain of rats. *The Journal of Neuroscience*, 14(10):5986-5995.
- White, N.M. y McDonald, R.J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77:125-184.
- White, N.M. y Milner, P.M. (1992). The psychobiology of reinforcers. *Annual Review of Psychology*, 43:443-471.
- Wiley, R.G., Berbos, T.B., Deckwerth, T.L., Johnson, E.M. y Lappi, D.A. (1995). Destruction of the cholinergic basal forebrain using immunotoxin to rat NGF receptor: Modeling the cholinergic degeneration of Alzheimer's disease. *Journal of Neurological Sciences*, 128:157-166.
- Wiley, R.G., Oeltmann, T.N. y Lappi, D.A. (1991). Immunolesioning: selective destruction of neurons using immunotoxin to rat NGF receptor. *Brain Research*, 562(1):149-153.

- Woolf, N. (1991). Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 37:475-524.
- Woolf, N.J. (1996). The critical role of cholinergic basal forebrain neurons in morphological change and memory encoding: a hypothesis. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66:258-266.
- Woolf, N.J. (1998). A structural basis for memory storage in mammals. *Progress in Neurobiology*, 55:59-77.
- Woolf, N.J. y Butcher, L.L. (1982). Cholinergic projections to the basolateral amygdala: A combined Evans' blue and acetylcholinesterase analysis. *Brain Research Bulletin*, 8:751-763.
- Woolf, N.J. y Butcher, L.L. (1985). Cholinergic systems in the rat brain: II. Projections to the interpeduncular nucleus. *Brain Research Bulletin*, 14(1):63-83.
- Woolf, N.J. y Butcher, L.L. (1986). Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Research Bulletin*, 16(5):603-37.
- Wrenn, C.C., Lappi, D.A. y Wiley, R.G. (1999). Threshold relationship between lesion extent of the cholinergic basal forebrain in the rat and working memory impairment in the radial maze. *Brain Research*, 847:284-298.
- Zaborszky, L., Carlsen, J., Brashear, H.R. y Heimer, L. (1986). Cholinergic and GABAergic afferents to the olfactory bulb in the rat with special emphasis on the projection neurons in the nucleus of the horizontal limb of the diagonal band. *The Journal of Comparative Neurology*, 243(4):488-509.
- Zaborszky, L. y Cullinan, W.E. (1992). Projections from the nucleus accumbens to cholinergic neurons of the ventral pallidum: a correlated light and electron microscopic double-immunolabeling study in rat. *Brain Research*, 570(1-2):92-101.
- Zaborszky, L. y Cullinan, W.E. (1996). Direct catecholaminergic-cholinergic interactions in the basal forebrain. I. Dopamine- β -hydroxylase and tyrosine hydroxylase input to cholinergic neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 374:535-554.

- Zaborszky, L., Cullinan, W.E. y Braun, A. (1991). Afferents to basal forebrain cholinergic projection neurons: and update. En T.C. Napier, P.W. Kalivas e I. Hanin (Eds.). *The Basal Forebrain*. New York: Plenum (pp. 43-100).
- Zaborszky, L. y Duque, A. (2003). Sleep-wake mechanisms and basal forebrain circuitry. *Frontiers in Bioscience*, 8:d1146-1169.
- Zaborszky, L., Gaykema, R.P., Swanson, D.J. y Cullinan, W.E. (1997). Cortical input to the basal forebrain. *Neuroscience*, 79(4):1051-1078.
- Zaborszky, L., Leranth, C. y Heimer, L. (1984). Ultrastructura evidence of amygdalofugal axons terminating on cholinergic cells of the rostral forebrain. *Neuroscience Letters*, 52:219:225.
- Zaborszky, L., Pang, K., Somogyi, J., Nadasdy, Z. y Kallo, I. (1999). The basal forebrain corticopetal system revisited. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877:339-67.