

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO.

---

03081  
5  
24

**EFFECTOS DE TRANSPLANTES DE MEDULA SUPRERRENAL EN AMIGDALA SOBRE LA  
CONDUCTA OLFATIVA PRODUCIDA POR LESIONES DEL SISTEMA  
MESOCORTICOLIMBICO DOPAMINERGICO.**

Tesis que para obtener el grado de

**DOCTOR EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA**

Presenta:

**M.I.B.B. JUAN FERNANDEZ RUIZ**

**Director de Tesis: Dr. René Drucker Colín**

**México. D.F. 1993**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## RESUMEN

El sistema mesencefálico dopaminérgico se divide en dos: el sistema mesoestriatal, que ha sido involucrado en la enfermedad de Parkinson, por lo que se le atribuye un papel en la conducta motora; y el sistema mesocorticolímbico, que ha sido involucrado en las deficiencias de tipo cognoscitivo que también afectan a los enfermos de Parkinson. Debido a que en dicha enfermedad también se presentan deficiencias olfativas que pudieran estar relacionadas con la degeneración del sistema mesocorticolímbico, se decidió estudiar el efecto de la depleción catecolaminérgica de la amígdala sobre el olfato. Esta estructura cumple con los dos requisitos para ser candidata de estudio ya que recibe inervación olfativa de la corteza piriforme, así como inervación dopaminérgica del área ventral tegmental.

Se hicieron dos experimentos, en el primero se lesionaron bilateralmente con 6-hidroxidopamina dos grupos de ratas, uno en la amígdala y el otro en la corteza insular, y se probaron en una tarea olfativa junto con un grupo control. En el segundo experimento se lesionaron en la amígdala a dos grupos de ratas y se probaron en la misma tarea olfativa junto con un grupo control. Posteriormente a uno de los grupos lesionados se le transplantó bilateralmente médula suprarrenal neonatal en la amígdala. Después de dos meses de reposo todos los grupos fueron sometidos nuevamente a la tarea olfativa. La prueba olfativa utilizada fue la potenciación de la aversión al olor por el gusto.

Los resultados del primer experimento indicaron que la lesión con 6-OHDA en la amígdala daña el aprendizaje olfativo, pero no la aversión al gusto; mientras que la lesión de la corteza insular produce el efecto inverso. En el segundo experimento, los resultados mostraron que los animales que recibieron el trasplante recuperaron el aprendizaje de la tarea olfativa y los niveles de dopamina medidos con HPLC. El grupo lesionado no recuperó ni la conducta olfativa, ni los niveles de dopamina. Se concluyó que los niveles dopaminérgicos en la amígdala afectan la conducta olfativa y ésta es susceptible de restauración mediante el trasplante de médula suprarrenal neonatal.

## ABSTRACT

The mesencephalic dopaminergic system is divided in two: the mesostriatal system, which has been involved in the motor symptoms of Parkinson's disease and the mesocorticolimbic system, which in turn has been involved in the cognitive deficits of the same disease. Because subjects suffering of Parkinson also have olfactory deficits that could be related to mesocorticolimbic system degeneration, we decided to study the amygdala catecholaminergic depletion effects on olfaction. This structure has both requisites for been subject to study: it receives olfactory innervation from the pyriform cortex, as well as dopaminergic innervation from the ventral tegmental area.

Two experiments were done. In the first one, two groups of rats were lesioned bilaterally with 6-hydroxidopamine. One group was lesioned in the amygdala, and the other one was lesioned in the insular cortex. All the rats, including a control group, were tested in the potentiation of odor by taste aversion paradigm. In the second experiment three groups of rats were tested in the same paradigm after been bilaterally lesioned, or sham lesioned, in the amygdala. After the olfactory test, one of the previously lesioned groups received bilateral adrenal medulla transplants in the site of the lesion. Two months later all the groups were tested again in the olfactory paradigm.

The first experiment results suggested olfactory, but not taste, impairment due amygdala catecholamine depletion. In the other hand the insular cortex lesions showed the contrary effect. The

results of the second experiment suggests that adrenal medulla grafts in the previously catecholamine denervated amygdala, produced an improvement in both olfactory learning and catecholamine levels. The main conclusion is that the catecholaminergic levels of the amygdala affect the olfactory learning, which in turn could be restored by adrenal medulla transplants.

## INDICE

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	1
LOS SISTEMAS NORADRENÉRGICO Y SEROTONÉRGICO.	2
EL SISTEMA DOPAMINÉRGICO.	2
TRANSPLANTES AL CEREBRO	6
DEFICIENCIAS NO-MOTORAS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.	8
DEFICIENCIAS OLFATORIAS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.	10
EL SISTEMA OLFATORIO	15
LA POTENCIACIÓN DE LA AVERSIÓN AL OLOR POR EL GUSTO.	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
OBJETIVOS	33
Objetivos Generales	33
Objetivos Específicos	33
TRABAJO EXPERIMENTAL I:	35
"EFFECTS OF CATECHOLAMINERGIC DEPLETION OF THE AMYGDALA AND INSULAR CORTEX ON THE POTENTIATION OF ODOR BY TASTE AVERSION"	
TRABAJO EXPERIMENTAL II:	36
"ADRENAL MEDULLARY GRAFTS RESTORE OLFACTORY DEFICITS AND CATECHOLAMINE LEVELS OF 6-OHDA AMYGDALA LESIONED ANIMALS"	
DISCUSIÓN	37
DEFICIENCIAS OLFATORIAS POR DEPLECIÓN CATECOLAMINERGICA DE LA AMÍGDALA	37
RESTABLECIMIENTO DE LA AVERSIÓN OLFATIVA Y DE LOS NIVELES CATECOLAMINERGICOS POR TRANSPLANTES DE MÉDULA ADRENAL	41
MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRANSPLANTES	53
CONCLUSIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58

## INTRODUCCION

Uno de los grandes retos de la investigación científica contemporánea radica en encontrar la cura a las llamadas enfermedades neurodegenerativas. Para lograr cumplir ese objetivo se pueden seguir diferentes aproximaciones, una de las cuales es idear modelos experimentales sobre los que se pueda trabajar sin comprometer la vida humana.

La presente tesis se compone de dos trabajos experimentales. En el primero se examinó la deficiencia olfativa producida por la lesión de una región del sistema nervioso central, la amígdala, afectada comúnmente en el Parkinson. En el segundo se transplantó médula adrenal a animales sometidos al modelo experimental diseñado en la primera fase, y se analizó su efecto sobre la conducta olfativa.

## ANTECEDENTES

Uno de los más importantes acontecimientos dentro del campo de las neurociencias fué el descubrimiento de las proyecciones monoaminérgicas directas del sistema reticular activador ascendente al telencéfalo. Actualmente se han identificado tres tipos celulares aminérgicos en el tallo cerebral que proyectan al telencéfalo. Estos tipos se distinguen por su neurotransmisor: norepinefrina, serotonina o dopamina. A continuación describiré brevemente a los dos primeros y profundizaré en el tercero.

## LOS SISTEMAS NORADRENERGICOS Y SEROTONERGICOS.

El sistema noradrenérgico del tallo cerebral se origina principalmente en el locus coeruleus, en el tegmento lateral y en el bulbo dorsal; las eferentes del primer sistema al cerebro anterior se dirigen a la corteza cerebral, al hipocampo, a la amígdala, al bulbo olfatorio, al septum, al hipotálamo medial, al tálamo, a los cuerpos geniculados y al tectum. Las proyecciones de los otros dos sistemas al cerebro anterior son al área preóptica, al n. supraóptico, al n. dorsomedial, al n. ventromedial, a la eminencia media y a los núcleos arcuatos del hipotálamo, núcleo paraventricular del tálamo, al septum y a la amígdala (Bjorklund y Lindvall, 1987).

El sistema serotonérgico tiene su origen en los núcleos del rafe y sus núcleos adyacentes, y manda proyecciones a la corteza cerebral, al estriado, al sistema límbico y al diencéfalo. (Cooper, Bloom and Roth, 1991).

## EL SISTEMA DOPAMINERGICO.

El sistema dopaminérgico mesencefálico tiene su origen en tres núcleos ubicados en el tallo cerebral conocidos como la sustancia nigra o A9, el área ventral tegmental o A10 y el núcleo retrorubral o A8.

Tradicionalmente la sustancia nigra (SN) se ha considerado el

área de origen de la proyección dopaminérgica al estriado, mientras que el área ventral tegmental (AVT) se ha considerado como el origen de la proyección dopaminérgica al sistema límbico y a la corteza cerebral (Lindvall y cols. 1974). Sin embargo, estudios subsecuentes han demostrado que las capas ventrales de SN y AVT proyectan al estriado, mientras que las regiones dorsales de SN y AVT proyectan al sistema límbico y a la corteza cerebral (Fallon y Moore, 1978; Fallon, Riley y Moore, 1978). Es por esta razón que las proyecciones mesencefálicas dopaminérgicas ascendentes fueron renombradas como "sistema mesotelencefálico" (Bjorklund y Lindvall, 1987). Este sistema se divide en dos: el sistema mesoestriatal, que incluye las proyecciones dopaminérgicas que terminan en el estriado; el sistema mesocorticolímbico, que incluye las proyecciones dopaminérgicas mesencefálicas al sistema límbico y a la corteza cerebral (Lindvall y Bjorklund, 1984). Cabe notar que en esta clasificación es más importante el sistema de proyecciones que el área de origen, ya que como se mencionó anteriormente el núcleo de origen (SN o AVT) de las neuronas dopaminérgicas no predice exactamente el destino de sus proyecciones. Es por esto que se considera que las células dopaminérgicas del AVT forman un continuo con aquéllas de la pars compacta de la SN. El tercer sistema dopaminérgico de proyección, también forma un continuo con la SN y el AVT, a este sistema se le conoce como el núcleo retrorubral (Moore y Bloom, 1978), y manda eferencias, aunque en menor grado que las dos áreas ya mencionadas, al estriado, al núcleo acumbens, al tubérculo olfatorio, a la amígdala y a las cortezas piriforme y entorrinal (Swanson, 1982;

Deutch, Goldstein, Baldino y Roth, 1988).

Según la definición de Bjorklund y Lindvall (1987) el sistema mesoestriatal esta compuesto por dos partes, la parte dorsal que inerva al estriado dorsal (núcleo caudado-putamen), y la parte ventral que inerva al núcleo acumbens, al tubérculo olfatorio y al núcleo basal de la estría terminalis (estriado ventral). Según esta misma nomenclatura, el sistema mesolimbocortical es aquel que innerva al septum, a la amígdala, a las cortezas piriforme, entorrinal, prefrontal y cingulada, a la habénula y a algunas regiones del tallo cerebral (Bjorklund y Lindvall, 1987). Sin embargo otros autores difieren de esta nomenclatura, ya que se refieren al sistema mesoestriatal como únicamente a la proyección al estriado, y adjudican la proyección al acumbens como parte del sistema mesolimbicocortical (Domesick, 1988; Koob y Swerdlow, 1988; Scatton, D'Angio, Driscoll y Serrano, 1988). Incluso se habla de un sistema mesocortical, mesolímbico, mesoacumbens y mesoamigdalino (Thierry, Mantz, Milla y Glowinski, 1988; Scatton y cols. 1988; Koob y Swerdlow, 1988; Kilts, Anderson, Ely y Mailman, 1988). Debido a que Bjorklund y Lindvall (1987) también relacionan funcionalmente al núcleo acumbens con la proyección mesocorticolímbica, durante el presente trabajo se considerará que el sistema mesocorticolímbico está compuesto por las eferentes dopaminérgicas ascendentes que inervan al acumbens, al estriado ventromedial, al pálido ventral, al tubérculo olfatorio, a las cortezas frontal, cingulada, piriforme, entorrinal e insular, al tálamo medio dorsal, al área septal y a la amígdala (Ungerstedt, 1971; Fallon y cols. 1978; Fallon y Moore,

1978; Moore, 1978; Thierry, Blanc, Sobel, Stinus y Glowinski, 1973; Berger, Tassin, Blanc, Moyne y Thierry, 1974; Fuxe, Hokfelt, Johansson, Jonsson, Lidbrink y Ljungdahl, 1974; Lindvall, Bjorklund, Moore y Stenevi, 1974; Lindvall, Bjorklund y Divac, 1978). Es decir, la proyección del sistema mesocorticolímbico abarca prácticamente a todo el sistema límbico, exceptuando al hipotálamo que recibe innervación dopaminérgica de los sistemas tuberohipofiseal, incertohipotalámico y diencefaloespinal (Bjorklund y Lindvall, 1987).

Las proyecciones dopaminérgicas mesoestriatales han sido ampliamente estudiadas en roedores con la finalidad de generar un modelo para el estudio de las deficiencias motoras en la enfermedad de Parkinson. Este modelo consiste en lesionar unilateralmente las conexiones dopaminérgicas mesoestriatales. La lesión usualmente se hace mediante la inyección de la toxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que al ser incorporada por las células dopaminérgicas favorece la formación de radicales libres, los cuales son altamente tóxicos e inducen la degeneración celular. Una vez lesionado el sujeto experimental, se procede a estimar el daño mediante pruebas motoras. La prueba motora más comúnmente usada es la conducta de giro que consiste en la cuantificación del número de giros hacia el lado contralateral de la lesión. Dichos giros usualmente son inducidos mediante la inyección de agonistas dopaminérgicos.

Utilizando este modelo se ha demostrado que las deficiencias producidas por la depleción dopaminérgica unilateral de la vía mesoestriatal, pueden ser revertidas por medio del trasplante rico

en células dopaminérgicas (Bjorklund y Stenevi, 1979; Perlow y cols. 1979; Freed y cols. 1980; Bjorklund y cols. 1980; Freed y cols. 1983; Herman y cols, 1986). En este punto es conveniente explicar brevemente en que consisten los trasplantes de células nerviosas.

#### **TRANSPLANTES AL CEREBRO**

El gran impacto de las deficiencias nerviosas, especialmente el producido por las enfermedades neurodegenerativas, en las diferentes esferas de la sociedad actual han propiciado el desarrollo de estrategias terapéuticas que, con distintas aproximaciones, intentan aliviar dichos desórdenes. Los trasplantes de tejido nervioso al cerebro comenzaron como una herramienta para el estudio de la fisiología del sistema nervioso, sin embargo debido al surgimiento de modelos experimentales de algunas enfermedades neurodegenerativas, han tomado un nuevo giro, que se refiere al posible tratamiento de dichas enfermedades.

Cuando se habla de trasplante de órganos, como por ejemplo de corazón o de riñón, se entiende que se transplanta todo el órgano de un sujeto donador a un sujeto receptor; o cuando lo que se transplanta es médula ósea, basta con obtener una cantidad crítica de médula ósea para que el trasplante sea funcional. Sin embargo ninguno de los anteriores es el caso de los trasplantes de tejido nervioso, ya que no se transplanta todo el cerebro de un donador a un receptor, ni se transplanta una cantidad de tejido nervioso inespecífico. En el caso de los trasplantes de tejido nervioso se

transplantan células con características específicas que varían dependiendo del propósito del trasplante; es decir, si se trabaja en un modelo de la enfermedad de Parkinson se transplanta tejido rico en células dopaminérgicas, pero si se trabaja en un modelo de la enfermedad de Alzheimer lo que se transplanta es tejido rico en células colinérgicas. Actualmente las células transplantadas al cerebro provienen de muy diversas fuentes, que van desde el mismo hospedero (autotransplantes), hasta células intervenidas genéticamente (Horellou, Brundin, Kalen, Mallet y Bjorklund, 1990).

Aunque los primeros intentos de transplantar tejido nervioso en mamíferos se comenzaron a dar a finales del siglo XIX, no fué sino hasta 1979 que se demostró que los trasplantes de tejido nervioso fetal son capaces de interactuar con el hospedero para restaurar una función previamente dañada (Perlow, Freed, Hoffer, Seiger, Olson y Wyatt, 1979; Bjorklund y Stenevi, 1979). Estos primeros resultados positivos abrieron una nueva rama de la investigación en neurociencias que utiliza la técnica de trasplantes de tejido nervioso incluso para su aplicación terapéutica. El mejor ejemplo de esa aplicación es en la enfermedad de Parkinson, en la cual el trasplante de células tomadas ya sea de médula suprarrenal, o de mesencéfalo fetal, producen mejorías motoras en algunos de los pacientes tratados (Madrazo, Drucker-Colín, Díaz, Martínez-Mata, Torres and Becerril, 1987; Freed, Breeze, Rosenberg y cols. 1992; Goetz, Olanow, Koller y cols. 1989), e incluso se han demostrado mejorías en las deficiencias cognitivas (Ostrosky-Solis, Quintanar, Madrazo, Drucker-Colín,

Franco-Bourland y León Meza, 1988), deficiencias que son descritas a continuación.

#### DEFICIENCIAS NO-MOTORAS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

Las deficiencias de tipo motor, a pesar de ser las más notorias, no son las únicas que aquejan a los enfermos de Parkinson. Recientemente se han comenzado a estudiar las capacidades cognitivas en estos pacientes, encontrándose deficiencias que abarcan diferentes modalidades. Una de las pruebas aplicadas a los enfermos de Parkinson que ha producido datos muy consistentes, es la denominada "Wisconsin Card Sorting Test" (WCST). Esta tarea consiste en clasificar cartas tipo baraja, que varían en la forma, el color y el número de elementos estampados en una de las caras de las cartas. Basándose en la retroalimentación que le da el investigador, el sujeto tiene que ordenar las cartas de acuerdo a una sola de las características, por ejemplo el color (azul, verde, rojo, etc...), una vez que el sujeto comienza a ordenar correctamente las cartas, el investigador cambia la característica correcta. Si el sujeto sigue basándose en la misma característica que le daba buenos resultados, empezará a cometer errores, ya que la característica correcta ha cambiado. Si en cambio modifica su estrategia y en vez de ordenar por el color, comienza a ordenar por otra característica hasta que encuentre aquella que le da una retroalimentación correcta, el sujeto empezará a acertar nuevamente. Sujetos normales son capaces de cambiar sin ninguna dificultad la

estrategia a seguir para resolver correctamente esta tarea. En cambio, se ha encontrado consistentemente que los enfermos de Parkinson cometen un mayor número de errores al no cambiar su estrategia para resolver el problema, a pesar de que la retroalimentación del investigador les dice que su clasificación ya no es acertada (Karamat, Ilmberger, Poewe y Gerstenbrand, 1991).

Debido a que ha sido ampliamente demostrado que uno de los principales efectos de la lesión de la corteza frontal en humanos es el marcado empobrecimiento en la ejecución en la WCST (Milner, 1963; Milner y Petrides, 1984), se ha postulado que los enfermos de Parkinson tienen deficiencias relacionadas al lóbulo frontal (Brown and Marsden, 1990; Taylor, Saint-Cyr y Lang, 1986, 1990; Lange, Robbins, Marsden, James, Owen y Paul, 1992).

La hipótesis de que los enfermos de Parkinson presentan deficiencias de tipo cognoscitivo ha permitido comenzar a caracterizar toda una gama de desórdenes que surgen en esta enfermedad; por ejemplo, se ha demostrado que los enfermos de Parkinson muestran un pobre reconocimiento de caras (Dewick, Hanley, Davies, Playfer y Turnbull, 1991), tienen dificultades para aprender procedimientos motores (Harrington, Haaland, Yeo y Marder, 1990; Bondi y Kaszniak, 1991), muestran una reducción significativa en la memoria episódica (Mohr y cols. 1990; Vriezen y Moscovitch, 1990) y tiene dificultades con la memoria a corto plazo (Sullivan y Sagar, 1991; Bruna, Junque, Vendrell, Roig y Grau-Veciana, 1992; Fischer, Kendler y Goldenberg, 1990). En lo que se refiere a habilidades cognoscitivas, Vilert Barnet, Jarne Esparcia, y Aguilar

Barbera (1991) reportaron que dos de los factores mas dañados en la enfermedad de Parkinson son la comprensión de lenguaje complejo y las habilidades matemáticas (Vilert Barnet y cols. 1991; Bruna y cols. 1992).

Sin embargo, es importante recalcar que debido a lo reciente de estas investigaciones y a la falta de estandarización de las pruebas aplicadas a estos pacientes, es posible encontrar datos que aparentemente son contradictorios, pero que seguramente con el tiempo se determinará la causa de su discordancia. Por ejemplo Vriezen y Moscovitch (1990) con base en sus experimentos concluyen que los enfermos de Parkinson tienen una memoria de reconocimiento intacta, mientras que Massman, Delis, Butters, Levin y Salmon (1990) si encuentran deficiencias en la memoria de reconocimiento de los enfermos de Parkinson.

#### **DEFICIENCIAS OLFATIVAS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.**

A mediados de la década de los 70 comenzaron a publicarse artículos que muestran una disfunción olfatoria en los enfermos de Parkinson (Ansary y Johnson, 1975). Sin embargo, no fue sino hasta mediados de los 80 que un grupo de investigadores dirigidos por R.L. Doty comenzó a estandarizar pruebas olfatorias para aplicarlas en el humano, y así poder comparar objetivamente las capacidades olfatorias en sujetos normales y en sujetos enfermos. El resultado de los esfuerzos de dicho grupo (Doty, Shaman y Dann 1984) fue la prueba conocida como la "University of Pensilvania Smell

Identification Test" (UPSIT), que consiste en un cuaderno que contiene diferentes tipos de pruebas olfatorias. El principio consiste en raspar los sitios indicados en el cuaderno de prueba, lo cual produce la liberación de moléculas odoríficas contenidas en microesferas adheridas a las hojas del folleto.

Las primeras investigaciones sobre disfunciones olfativas en la enfermedad de Parkinson fueron las realizadas por Ansary y Johnson (1975). Estos autores utilizaron un método de diluciones consecutivas para determinar el umbral de detección en 20 pacientes con la enfermedad de Parkinson. Sus resultados mostraron que el 45% de los enfermos de Parkinson sufrían un incremento en el umbral para detectar acetato amílico diluido en aceite mineral. A principios de los 80's Ward, Hess y Calne (1983) administraron tres tipos de pruebas olfatorias a 72 enfermos de Parkinson. La primera prueba requería que los sujetos indicaran cual de tres tubos tenía un olor determinado. La segunda prueba fue para determinar el umbral de detección para amil acetato, mientras que la tercera prueba requería que los sujetos nombraran los olores, presentados uno a la vez, de soluciones contenidas en tubos de ensayo (p. ej. café, canela, cereza, etc...). De los enfermos de Parkinson, el 49% no pudo identificar el olor de café fresco, el 35% no identificó el olor de la canela, aún cuando su nombre estaba escrito entre varias alternativas, y el 17% fueron anósmicos. Cabe notar que no se encontró correlación entre los resultados y la edad del paciente o la duración de los síntomas (Ward y cols. 1983).

Recientemente el grupo de Doty (Doty, Deems y Stellar, 1988)

demonstró que los enfermos de Parkinson presentan disfunciones olfatorias en dos modalidades. Una se refiere al incremento en el umbral para detectar un olor determinado y la otra se refiere a la identificación de olores. En ese mismo estudio se les aplicó a los pacientes una prueba de identificación visual (PIT: picture identification test) en la que no mostraron ningún tipo de deficiencias. Al igual que en el estudio de Ward y cols. (1983), Doty y cols. (1988) encontraron que el 13% de los sujetos con Parkinson eran anósmicos.

En un estudio complementario al de Doty y cols. (1988), Murofushi, Mizuno, Osanai y Hayashida, (1991) sometieron a enfermos de Parkinson y controles a una prueba para determinar los umbrales de detección olfativa, así como a una prueba de reconocimiento olfativo, encontrando que los primeros tenían umbrales mas altos en la detección de olores, así como deficiencias en el reconocimiento olfativo. También encontraron que a pesar de las deficiencias olfatorias, los enfermos de Parkinson no tuvieron deficiencias en pruebas similares en la modalidad auditiva, descartando una posible deficiencia generalizada para la detección y discriminación de estímulos ambientales (Murofushi y cols., 1991).

Debido a que la capacidad normal del sistema olfatorio va disminuyendo con la edad (Doty, y cols. 1984), Zucco, Zaglis y Wambsganss (1991) compararon dos grupos de sujetos, uno con Parkinson y el otro de ancianos normales. Los grupos fueron examinados en dos tareas. En la primera tarea, los sujetos tenían que reconocer el olor previamente olfateado entre cuatro muestras de

olores, mientras que en la segunda tarea tenían que dar el nombre de un olor escogiendo entre cuatro posibles nombres propuestos por los investigadores. Los resultados sugieren que los enfermos de Parkinson son mas eficientes en nombrar que en parear olores, mientras que en los ancianos sucede al revés. Este estudio demostró que las deficiencias olfatorias en el Parkinson son diferentes a las que ocurren durante el proceso de envejecimiento normal.

Deficiencias olfatorias en el Parkinson versus otros desórdenes neurológicos.

Las capacidades olfatorias de los enfermos de Parkinson han sido comparadas con las de sujetos con diferentes deficiencias neurológicas. Así, Doty, Singh, Tetrud y Langston (1992) reportaron la función olfativa de 6 pacientes cuyo parkinsonismo fue el resultado de la administración intravenosa de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro-piridina (MPTP), y la compararon con la de 12 pacientes con Parkinson idiopático y 10 controles de la misma edad. A diferencia de los enfermos de Parkinson, los resultados de las pruebas olfatorias en los pacientes con parkinsonismo inducido con MPTP, no difirieron significativamente de los sujetos controles. Estos resultados sugieren que el Parkinsonismo inducido por MPTP, a diferencia del Parkinson idiopático, no es acompañado por alteraciones mayores en la habilidad olfativa. Otro desorden de tipo motor que se relaciona a una enfermedad neurodegenerativa es la parálisis supranuclear

progresiva (PSP). A diferencia de los enfermos de Parkinson, los individuos que padecen PSP no muestran deficiencias olfatorias, aunque su desorden motor es frecuentemente confundido con el Parkinson (Jackson, Jankovic y Ford, 1983).

De igual manera, Busenbark, Huber, Gree, Pahwa y Koller (1992) en un estudio comparativo, encontraron que a diferencia de los enfermos de Parkinson idiopático, los enfermos con tremor esencial (ET) no presentan disfunciones olfativas medidas con el UPSIT.

Otra enfermedad neurodegenerativa en la que también se afecta el reconocimiento de olores recién presentados es en el Alzheimer (Serby, Corwin, Movatt, Conrad y Rotrosen, 1985). Desafortunadamente los enfermos de Alzheimer presentan deficiencias mnemónicas mas generalizadas (Squire, 1986; Fernández Ruiz, 1993), demostrándose en un estudio comparativo que los enfermos de Alzheimer presentan severas deficiencias de identificación tanto en la modalidad visual como en la olfativa, mientras que los enfermos de Parkinson como anteriormente se mencionó, muestran principalmente deficiencias en el olfato (Doty y cols. 1988). Por esta razón es difícil interpretar si la naturaleza de la deficiencia olfativa en la enfermedad de Alzheimer es un fenómeno generalizado a otras modalidades sensoriales o es exclusiva del sistema olfativo (Knupfer y Spiegel, 1986; Murphy, Gilmore, Seery, Salmon y Lasker, 1990).

Con el propósito de determinar las posibles áreas del sistema nervioso central involucradas en la disfunción olfativa que padecen los enfermos con Parkinson, a continuación se revisa brevemente el sistema olfatorio.

## EL SISTEMA OLFATORIO

### ASPECTOS ANATOMICOS

La mayoría de los mamíferos tienen dos órganos detectores de olores en la cavidad nasal. Dichos órganos son el epitelio olfativo y el órgano vomeronasal y son muy diferentes entre sí, ya que están localizados en compartimientos anatómicos separados, y proyectan a diferentes regiones del sistema nervioso central. Debido a que el sistema vomeronasal ha sido involucrado principalmente con aspectos de reproducción no será mencionado más en este trabajo.

La formación olfatoria principal.

El epitelio olfatorio cubre las regiones superiores y posteriores de la cavidad nasal. Los receptores olfatorios son células neuroepiteliales bipolares cuyas dendritas llegan hasta la mucosa cubriendo todo el epitelio olfativo. Los axones de estas células viajan en fascículos que atraviesan la criba olfatoria hasta llegar al bulbo olfatorio principal donde forman la capa más externa del bulbo. De esta capa salen los axones del nervio olfatorio para terminar formando la segunda capa, en donde forman complejos esféricos llamados glomérulos.

Proyecciones del bulbo olfatorio.

El bulbo olfatorio da origen al tracto olfatorio lateral (TOL), que es la principal proyección de información olfativa hacia otras regiones del sistema nervioso central. La proyección comienza en el núcleo anterior olfatorio que es la estructura inmediata posterior al bulbo olfatorio, después el TOL deja el grueso de sus fibras en la corteza piriforme (también llamada corteza olfatoria primaria), y sigue avanzando hacia el tubérculo olfatorio. De aquí, las terminales del TOL inervan a la amígdala, para desaparecer finalmente en la corteza entorrinal.

#### Proyecciones del núcleo olfatorio anterior.

El núcleo olfatorio anterior manda el grueso de sus eferentes de regreso al bulbo olfatorio formando un sistema de retroalimentación. Sin embargo también tiene eferentes hacia la corteza piriforme, al núcleo endopiriforme, a los núcleos de la banda diagonal, al tubérculo olfatorio, al núcleo basal de la estria terminalis, a la amígdala y al hipotálamo.

#### Proyecciones de la corteza piriforme.

La corteza piriforme es conocida también como la corteza olfatoria primaria, ya que es la primera estructura cortical que recibe proyecciones olfatorias directas del bulbo olfatorio. Como otras regiones corticales, la corteza piriforme proyecta a diferentes estructuras subcorticales, de las que es importante

mencionar al estriado ventral, al tálamo dorsomedial e incluso al hipotálamo lateral. Las eferentes piriformes a la amígdala llegan a diferentes núcleos de esta estructura incluyendo al cortical, al lateral, al basolateral, al basomedial y al central.

Las proyecciones a otras regiones corticales son esencialmente a la corteza entorrinal, sin embargo es conveniente mencionar que las proyecciones al tálamo mediodorsal resultan en el relevo de información olfativa hasta la corteza frontal.

En resumen, la vía olfatoria comienza en los receptores olfativos localizados en el epitelio olfatorio de las cavidades nasales. Las células receptoras proyectan directamente al bulbo olfatorio, estructura que manda inervación a diferentes regiones del sistema olfativo. El primer relevo, sin contar al núcleo anterior olfativo, es en la corteza piriforme, le sigue la amígdala, y finalmente el nervio olfatorio desaparece en la corteza entorrinal. Es importante notar que todas estas estructuras reciben información olfativa directamente del bulbo olfatorio sin antes pasar por el tálamo. La corteza piriforme abunda la información olfatoria a la amígdala y la corteza entorrinal, pero además inerva al tálamo mediodorsal, área que no recibe información directa del bulbo olfatorio. El tálamo mediodorsal, como es sabido, es la principal fuente subcortical de información olfativa de la corteza prefrontal.

#### ASPECTOS FISIOLÓGICOS

Ya desde la década de los 30's, Swann (1934, 1935) estudió el

efecto de diferentes lesiones cerebrales en ratas entrenadas a discriminar aserrín odorificado en un laberinto en "T". El encontró deficiencias solo cuando las lesiones involucraron al bulbo olfatorio o la región inmediata posterior. Lesiones que involucraron "centros olfativos" más centrales no tuvieron efecto en la ejecución. Estudios subsecuentes verificaron el aparente lugar de las lesiones que dañaron la discriminación, por lo que Pribram y Kruger (1955) llegaron a la conclusión de que la discriminación olfativa requiere únicamente de la integridad del bulbo olfatorio y sus proyecciones directas al "sistema olfatorio primario", el cual consistía del tubérculo olfatorio, el área de la banda diagonal, la corteza piriforme y la amígdala.

El lóbulo temporal y la amígdala.

Estudios recientes han ampliado los primeros hallazgos, ya que se ha demostrado que la ablación del lóbulo temporal da lugar a deficiencias de discriminación olfatoria, memoria de reconocimiento, así como nombrado de olores (Eskenazi, Cain, Novelly y Friend, 1983; Eskenazi, Cain, Novelly y Mattson, 1986). En el caso del sujeto amnésico HM, que sufrió una lobectomía temporal, la detección y discriminación de intensidades de olores se encontró en buen estado, sin embargo ejecutó pobremente en tareas olfativas de discriminación y memoria (Eichenbaum, Morton, Potter y Corkin, 1983).

Recientemente se ha recobrado el interés en el estudio de la

relación de la amígdala y el sistema olfativo. Beaulieu, Morris y Petrides (1988) demostraron que lesiones selectivas de la amígdala producen deficiencias olfativas en el aprendizaje de preferencias olfativas, mientras que Bermúdez-Rattoni, Rusiniak y García (1983) demostraron que la potenciación de la aversión al olor por el gusto también es afectada por la lesión en dicha estructura. Estudios electrofisiológicos han confirmado también la participación de la amígdala en la vía olfativa, ya que Cain y Bindra (1972) demostraron que alrededor del 40% de las neuronas de la amígdala responden a diferentes olores; de hecho, la respuesta de la amígdala a los olores ha sido usada para guiar la cirugía estereotáxica en humanos (Andy, Jurko y Hughes, 1975), e incluso se han hecho algunas correlaciones entre la percepción olfativa antes y después de la amigdalectomía en humanos (Hughes y Andy, 1979). A pesar de que se ha reportado que la estimulación de la amígdala puede activar auras olfatorias (Andy, Jurko y Hughes, 1975), existen evidencias que limitan el papel de la amígdala en el olfato. Por ejemplo, se sabe que la amígdala no es esencial para percibir olores ya que su lesión en humanos no produce daños aparentes en el olfato (Narabayashi, 1977), aunque se han descrito casos en que después de la amigdalectomía la detección de olores queda intacta, pero la identificación olfativa sufre daños severos (Andy, y cols., 1975).

En resumen, actualmente se consideran principalmente tres proyecciones olfativas a partir de la corteza piriforme. Dos que van hacia el sistema límbico - a la amígdala y a la corteza entorrinal - y que han sido involucradas en diferentes tareas olfativas como el

aprendizaje de discriminaciones olfativas (Beaulieu y cols. 1988); y otra que va al tálamo mediodorsal y que ha sido involucrada en tareas cognoscitivas, como la adquisición de juegos de aprendizaje, mas que en el procesamiento olfativo en si (Staubli y cols. 1987; Slotnick y Kaneko, 1981).

Como se mencionó anteriormente, la potenciación de la aversión al olor por el gusto, es tal vez la prueba conductual en la que el papel olfativo de la amígdala se ha demostrado de manera más contundente, es por esto que ha continuación se describirá brevemente este paradigma conductual.

#### **LA POTENCIACION DE LA AVERSION AL OLOR POR EL GUSTO.**

La potenciación de la aversión al olor por el gusto (PAOG) es un paradigma conductual que se deriva de los estudios realizados en el marco del condicionamiento aversivo a los sabores (CAS). Para entender mas profundamente la evolución teórica así como el estado actual de este paradigma, es conveniente comenzar por esbozar un marco teórico general que incluya una breve descripción de las principales características del condicionamiento aversivo a los sabores.

#### **EL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES (CAS)**

En 1955, García, Kimeldorf y Koelling describieron el efecto de radiaciones ionizantes en el consumo de un alimento con un

determinado sabor. Ellos notaron que ratas expuestas a radiaciones ionizantes después de consumir un alimento no consumieron de dicho alimento la siguiente ocasión en que se les presentó. Investigaciones posteriores han demostrado que este efecto se puede obtener no solamente con radiaciones ionizantes, sino también con sustancias que afecten al sistema emético del tallo cerebral (García, 1989). En esencia, el paradigma experimental derivado de aquellos primeros experimentos consiste en proporcionarle al sujeto un estímulo alimenticio (sólido o líquido), seguido por la aplicación de un irritante gástrico que estimule al sistema emético. A este paradigma conductual se le conoce como condicionamiento aversivo a los alimentos, o condicionamiento aversivo a los sabores, y se puede definir como la aversión aprendida a la comida o a los líquidos, cuando el consumo de esa sustancia es seguida por malestar del sistema digestivo (Chambers, 1990).

Cuando se descubrió este paradigma conductual, fué analizado en el marco de las principales teorías de aprendizaje, dando como resultado que ninguna de ellas era capaz de explicarlo en su totalidad. Esto se debe en gran parte a que desde los primeros artículos que describieron las características del CAS, se postuló al alimento como estímulo condicionado (EC) y a la irritación gástrica como estímulo incondicionado (EI) (García y Koelling, 1966; García, Ervin y Koelling, 1966). Por ejemplo, cuando se le comparó al condicionamiento clásico se encontraron principalmente dos grandes diferencias. La primera es en la relación de contigüidad temporal entre la aparición del EC y del EI, ya que en el

condicionamiento clásico la relación temporal tiene que ser en el orden de segundos, mientras que en el CAS el intervalo temporal entre la aparición del EC y del EI podía ser incluso de horas, y aún así se establecían fuertes asociaciones (García, Ervin y Koelling, 1966).

Un segundo punto de divergencia entre el condicionamiento clásico y el CAS radicó en el efecto de bloqueo descrito por Kamin en 1968 (Flaherty, 1985). En este procedimiento, si dos ECs son seguidos por un EI, únicamente uno de ellos será asociado al EI, y el otro quedará bloqueado. A diferencia del condicionamiento clásico donde ocurre el bloqueo, en el CAS si dos ECs (por ejemplo un estímulo gustativo y un estímulo olfativo) eran presentados simultáneamente antes del EI, ambos eran asociados con el EI, es decir no ocurría el fenómeno de bloqueo (Rusiniak, Hankins, García y Brett, 1979).

#### Una síntesis del aprendizaje

Por más de dos décadas el CAS permaneció como ejemplo de un tipo especial de aprendizaje que no se ajustaba a las reglas generales dictadas, tanto por el condicionamiento clásico, como por el instrumental. No fue sino hasta 1989 cuando el mismo García restableció la concordia entre el CAS y el condicionamiento clásico. Renombró a los componentes que constituyen al CAS, llamándole a la comida y/o agua EI como lo había hecho Pavlov a finales del siglo pasado, y adjudicándole a la irritación gástrica una función de

"retroalimentación", que sirve para informar al organismo de las consecuencias de haber ingerido tal sustancia.

Con esta nueva propuesta ya no existe conflicto en la relación entre el CAS y el condicionamiento clásico, ya que las dos principales divergencias quedan invalidadas. La primera de ellas que se refiere al intervalo temporal entre el EC y el EI, se puede eliminar, pues la comida es en ambos casos el EI, y por lo tanto ya no hay problema con que la irritación gástrica sea horas después. La segunda era la que imponía el bloqueo de Kamin; aquí de nuevo es importante que el sabor sea el EI, ya que cuando se presentaba un olor pareado con un sabor, antes se consideraban como dos EC compitiendo por un EI (irritación gástrica). Ahora ya no se considera así, sino que el olor es etiquetado como EC, el gusto como EI y la irritación gástrica como retroalimentación, por lo que ya no se considera como una competencia de dos EC por un EI.

#### EL OLFATO Y LA POTENCIACION DE LA AVERSION AL OLOR POR EL GUSTO.

Una vez aclaradas tanto la "nueva" nomenclatura como la relación del CAS con el condicionamiento clásico, es conveniente discutir el papel del olfato y de los olores en este esquema.

Si a una rata sedienta se le da agua asociada a un olor (EC) y media hora después se le inyecta un irritante gástrico como el LiCl, la siguiente vez que se le presente el agua con ese olor la rata no le tendrá aversión y la consumirá normalmente, pero si a la misma rata sedienta se le da una solución de sacarina (EI) asociada a otro

olor (EC) y media hora después se le inyecta un irritante gástrico, la siguiente vez que se le de acceso a agua con dicho olor (EC), la rata no beberá (Rusiniak y cols. 1979; Palmerino, Rusiniak y García, 1980).

En otras palabras, un EC seguido de una retroalimentación no se pueden asociar, pero cuando en la secuencia del paradigma un EI apropiado intercede entre el EC y la retroalimentación, el EC es asociado fuertemente a la retroalimentación. Cuando el EC es un olor, a este fenómeno se le conoce como Potenciación de la Aversión al olor por el Gusto (PAOG) (Rusiniak y cols. 1979). En forma general García le llamo a este fenómeno "Potenciación de claves distales por el gusto" (García, 1989).

El fenómeno de potenciación es un fenómeno completamente distinto al condicionamiento de segundo orden o al precondicionamiento sensorial, ya que en el primer caso cuando se asocia gusto (EI) con irritación gástrica (IG), y después se para al gusto con un olor (EC), cuando se prueba el consumo en presencia únicamente del olor no se detecta ninguna disminución en dicho consumo (Best, Batson, Meachum, Brown, y Ringer, 1985). Por otro lado, en el caso del precondicionamiento sensorial, si se para primero el olor con el gusto, y después únicamente el gusto es seguido de la IG, cuando se presenta el olor no hay disminución en el consumo (Palmerino y cols. 1980).

Sin embargo, es muy importante notar que probablemente cualquier clave que induzca una expectación gustativa en el sujeto puede servir en el papel de EI gustativo. Por ejemplo, Holland

(1981) presentó simultáneamente un tono (CS) y un alimento (EI), y después pareó el tono con la IG, la siguiente ocasión que presentó la comida (EI), disminuyó su consumo. Holland infirió que esto se debe a que se obtuvo aversión cuando la expectancia de ese alimento es seguida por náusea.

En resumen, se puede decir que el condicionamiento aversivo a los sabores es el aprendizaje por el cual el organismo etiqueta por medio de un sistema de retroalimentación el daño (o beneficio en el caso de condicionamiento preferente a los sabores) producido por la ingestión de una sustancia con un sabor determinado (EI). Basándose en el mismo marco teórico, se puede decir que la potenciación de la aversión al olor por el gusto, es la simple asociación de un EC (olor) a un EI (gusto) que ha adquirido cierto valor hedónico dado por un sistema de retroalimentación (RA).

#### CIRCUITOS NEURONALES INVOLUCRADOS EN EL PAOG

##### Circuitos neuronales para el estímulo incondicionado

La vía gustatoria comienza en las células receptoras del gusto que están localizadas en la lengua y en los paladares blando y duro. La información gustativa es transmitida por dos nervios, que son el nervio facial (chorda tympani y petroso) y el glossofaríngeo (rama lingual). Tanto las fibras aferentes del n. facial, como del n. glossofaríngeo terminan en el núcleo del tracto solitario (NTS). El NTS manda eferencias al núcleo parabraquial (NPB), y ambos núcleos

mandan eferencias directamente al núcleo ventroposteromedial (VPM) del tálamo. El NPB proyecta también al hipotálamo y a la amígdala. Por otro lado el VPM talámico proyecta a la corteza insular (también llamada corteza gustativa), y esta a su vez manda eferencias al VPM, a la amígdala, al NPB y al NTS.

#### Circuitos neuronales del sistema retroalimentador

La información que provee el sistema gastrointestinal comienza por el nervio vago, que manda información de la mucosa gastrointestinal a la región caudal del NTS. De ahí, la información pasa al NPB para después terminar en la corteza insular. Por otro lado, el área postrema que está situada en el piso del cuarto ventrículo y que carece de barrera hematoencefálica, es capaz de detectar diferentes sustancias químicas en la sangre. Esta área mantiene proyecciones recíprocas con el NTS, por lo que es probable que el área postrema informe al NTS de la presencia de químicos tóxicos.

Ambos sistemas de detección pueden fungir como sistemas retroalimentadores que informen al sistema nervioso central de la presencia de sustancias tóxicas en el organismo. Por ejemplo, el LiCl parece ser detectado principalmente por el área postrema, ya que la lesión de esta área abole el CAS producido por esta sustancia (Ritter, McGlone y Kelley, 1980). En cambio, la inyección intraperitoneal o intragástrica de sulfato de cobre no produce CAS si antes se secciona el nervio vago (Coil, Rogers, García y Novin,

1978).

#### Circuitos neuronales para el estímulo condicionado

El efecto de la potenciación de claves distales por el gusto puede incluir diferentes claves distales como estímulos visuales. Por ejemplo Brett, Hankins y García (1976), demostraron que un halcón no consumió ratones negros ni blancos, cuando solamente la ingestión del ratón negro fue seguida de irritación gástrica. Sin embargo, si el ratón negro era marcado con un sabor distintivo, entonces el halcón siguió sin comer ratones negros, pero comenzó a comer ratones blancos. Es decir el gusto (EI) le permitió potenciar la aversión por el color negro, bloqueando la aversión generalizada a los ratones blancos.

Recientemente Gaffan (1992), propuso que la amígdala está involucrada en las asociaciones entre estímulos discretos y su valor intrínseco recompensador. Por ejemplo, la asociación entre la apariencia particular de una sustancia alimenticia, y que tan bien sabe y nutre (o irrita al sistema digestivo) estaría mediada por la amígdala; en cambio, la ejecución de tareas de respuesta retardada sería independiente de la amígdala, ya que ese tipo de tareas dependen de estrategias para obtener comidas pero no están relacionadas en la asociación de una sustancia específica con el valor de alimento recompensador (Gaffan, 1992; Zola-Morgan, Squire y Amaral, 1989).

Esto quiere decir que si un animal tiene lesionada la amígdala

no podría asociar la apariencia o el olor de una sustancia con su sabor y valor nutricional, que es en efecto lo que sucede (Baylis y Gaffan, 1991), ni tampoco podría asociar la apariencia o el olor de una sustancia con su sabor y malestar gástrico (Bermúdez Rattoni y cols. 1983; Dunn y Everitt, 1988).

#### CONCLUSION

La reestructuración del marco teórico en que estaba asentado el condicionamiento aversivo a los sabores ha permitido la generación de una síntesis del aprendizaje que explica dos teorías que, por décadas, parecían irreconciliables. Por un lado el condicionamiento clásico y por el otro el condicionamiento aversivo a los sabores. Esta síntesis no solo acopla dos grandes teorías, sino que también permite explicar fenómenos como el de la potenciación de la aversión al olor por el gusto o el de bloqueo de Kamin. Basados en esta síntesis ha sido posible también ubicar a la amígdala como una figura central en el fenómeno de la potenciación de la aversión al olor por el gusto, hipótesis que por otro lado concuerda con los mecanismos propuestos para explicar las funciones de la amígdala.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Basándose en la información obtenida de los pacientes con alteraciones del sistema olfatorio, es posible vislumbrar algunas regiones del sistema nervioso central que pudieran estar involucradas en el origen de la deficiencia olfatoria en la enfermedad de Parkinson. En general en el Parkinson existe una disminución crítica de las vías dopaminérgicas que se originan en el mesencéfalo, siendo esta deficiencia la posible causante de los desórdenes motores y cognoscitivos. Con base en dichos antecedentes se puede postular que la deficiencia olfatoria en el Parkinson, pudiera originarse en alguna región del sistema olfatorio que sufriera una disminución dopaminérgica. A pesar de que esta afirmación parece aportar muy poca información debido a lo extenso del sistema dopaminérgico, los datos de la literatura restringen enormemente el campo de búsqueda, ya que como se mencionó anteriormente sujetos con Parkinson causado por la inyección de MPTP no presentan disfunciones olfatorias. Existe evidencia de que el MPTP lesiona principalmente al sistema mesoestriatal, pero no al sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (Bankiewicz, Plunkett,

Jacobowitz, Porrino, de Porizio, London, Kopin y Oldfield, 1990; Chiueh, Burns, Markey, Jacobowitz y Kopin, 1985). De estar involucrada la depleción dopaminérgica en las deficiencias olfatorias, la evidencia anterior sugeriría que es el sistema mesocorticolímbico, y no el mesoestriatal, el presunto involucrado en dicha deficiencia. Otro dato que restringe aún más el campo de búsqueda se refiere al hecho de que las deficiencias olfatorias no tienen ninguna correlación ni con las deficiencias motoras (dato que apoya la independencia del sistema mesoestriatal con la deficiencia olfatoria), ni con las deficiencias cognoscitivas (Doty, Riklan, Deems, Reynolds y Stellar, 1989). Si las deficiencias cognoscitivas en la enfermedad de Parkinson están relacionadas con la disfunción de la corteza prefrontal, y no existe correlación entre las disfunciones cognoscitivas y las olfatorias en el Parkinson, entonces la posible disfunción de la corteza frontal por depleción dopaminérgica no se correlacionaría con la deficiencia olfatoria.

De acuerdo a este razonamiento, la única disfunción del sistema dopaminérgico que pudiera dar cuenta del problema olfatorio en el Parkinson tendría que estar en el sistema mesolímbico. Estudios que revelan deficiencias olfatorias en sujetos con lobectomía temporal sustentan dicha hipótesis. Sujetos con este tipo de lesiones presentan sensibilidad olfatoria normal, o una leve hiposmia, sin embargo son deficientes en discriminaciones olfativas, en memoria de reconocimiento olfativo, en identificación de olores y en juicios acerca de los estímulos olfativos (Eskenazi, Cain, Novelly y Friend, 1983; Eskenazi, Cain, Novelly y Mattson, 1986). El caso más famoso

de disección bilateral del lóbulo temporal, el caso HM, mostró resultados similares con deficiencias olfativas de discriminación y memoria de los olores, aunque presentó capacidad normal en su umbral de detección de olores, así como en su capacidad para detectar diferentes intensidades de los mismos (Eichenbaum, Morton, Potter y Corkin, 1983).

Dentro del lóbulo temporal uno de los principales candidatos relacionados a la olfacción es la amígdala, ya que como se mencionó anteriormente esta estructura recibe aferencias tanto del bulbo olfatorio como de la corteza piriforme (Scalia y Winans, 1975; Veening, 1978), responde a la estimulación odorífica (Cain y Bindra, 1972; Andy, Jurko y Hughes, 1975) y su lesión afecta diversos tipos de aprendizaje olfatorio (Beaulieu y cols., 1988; Bermúdez Rattoni y cols., 1983).

Si las deficiencias olfatorias en la enfermedad de Parkinson estuvieran relacionadas a la depleción dopaminérgica de algún área comprometida con el sistema olfatorio, entonces la amígdala sería una de las principales áreas a considerar, ya que inclusive presenta una severa deficiencia catecolaminérgica durante dicha enfermedad (Hornykiewics y Kish, 1984; Scatton y cols., 1984).

## OBJETIVOS

### Objetivos Generales

I. Desarrollar un modelo en el cual el establecimiento experimental de condiciones neurológicas similares a las que ocurren en la enfermedad de Parkinson, den lugar a deficiencias de tipo olfatorio.

II. Determinar si el transplante de médula suprarrenal es capaz de restablecer la conducta olfatoria en animales previamente lesionados en el modelo anterior.

### Objetivos Específicos

I.1 Determinar si la lesión con 6-OHDA produce deficiencias olfatorias en dos regiones del sistema nervioso central -la amígdala y la corteza insular- que reciben aferencias del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico.

I.2 Determinar la especificidad de la deficiencia conductual producida por la depleción catecolaminérgica en la amígdala, y comparar este efecto con el producido en la corteza insular.

I.3 Determinar la especificidad del daño neuroquímico producido por la inyección con 6-OHDA mediante la cuantificación de los niveles de dopamina, noradrenalina y serotonina.

II.1 Determinar si el trasplante de médula suprarrenal en la amígdala es capaz de revertir la deficiencia olfatoria producida por la lesión con 6-OHDA.

II.2 Determinar si el trasplante de médula suprarrenal produce deficiencias colaterales inespecíficas en el aprendizaje.

II.3 Determinar si el trasplante de médula suprarrenal produce una reinstalación de los niveles catecolaminérgicos en los animales previamente lesionados.

**TRABAJO EXPERIMENTAL I:**

**"EFFECTS OF CATECHOLAMINERGIC DEPLETION OF THE AMYGDALA AND**

**INSULAR CORTEX ON THE POTENTIATION OF ODOR BY TASTE AVERSION"**

**Por Fernández Ruiz, J., Miranda, M.I. Bermúdez Rattoni, F. y**

**Drucker Colín, R.**

TRABAJO EXPERIMENTAL II:

"ADRENAL MEDULLARY GRAFTS RESTORE OLFACTORY DEFICITS AND

CATECHOLAMINE LEVELS OF 6-OHDA AMYGDALA LESIONED ANIMALS"

Por: Fernández Ruiz, J., Guzmán, R., Martínez, M.D., Miranda,

M.I., Bermúdez Rattoni, F. y Drucker Colín, R.

## DISCUSION

Los resultados de esta tesis son:

a) La depleción catecolaminérgica en la amígdala da lugar a deficiencias olfatorias, pero no gustativas, que son evidenciadas en el paradigma conductual conocido como potenciación de la aversión al olor por el gusto.

b) El transplante de células de médula suprarrenal revierte las deficiencias olfatorias, pero no las gustativas, producidas por depleción catecolaminérgica en la amígdala y reestablece los niveles catecolaminérgicos en la misma área.

### DEFICIENCIAS OLFATORIAS POR DEPLECION CATECOLAMINERGICA DE LA AMIGDALA

Con respecto al primer resultado, la deficiencia conductual observada por depleción catecolaminérgica no es un fenómeno aislado; ya desde 1979, Brozoski, Brown, Rosvold y Goldman observaron que la depleción de dopamina y noradrenalina en la corteza prefrontal producen una severa disminución en el número de aciertos que obtiene un mono en una tarea de memoria a corto plazo. En dicho estudio, los autores encontraron que es la depleción de la dopamina proveniente

del sistema mesocorticolímbico, la que correlaciona mejor con la deficiencia producida. Estos resultados han sido corroborados por Sawaguchy y Goldman-Rakic (1991), quienes demostraron que para producir deficiencias en la memoria de trabajo en monos, es suficiente la aplicación de antagonistas dopaminérgicos en la corteza prefrontal.

El papel de la dopamina mesocorticolímbica en tareas relacionadas al aprendizaje y la memoria también ha sido demostrado en la rata. Lesiones en el área ventral tegmental con 6-OHDA dan lugar a deficiencias en una prueba de alternación en un laberinto en "T"; mientras que la lesión con 6-OHDA de la corteza prefrontal, que es una de las regiones de proyección del sistema mesocorticolímbico, dió resultados similares; es decir, la lesión tanto de las células dopaminérgicas de origen, como de una de las regiones terminales, dan lugar a deficiencias en una tarea mnemónica (Simon, Scatton y Le Moal, 1979; Simon, Scatton y Le Moal, 1980). Estudiando los efectos dopaminérgicos en una región del sistema límbico que recibe inervación dopaminérgica del mesencéfalo, Simon y cols. (1986) han demostrado que la depleción dopaminérgica, pero no la noradrenérgica, en el área septal también afecta la ejecución mnemónica tanto en un laberinto en "T", como en un laberinto radial de 8 brazos (Simon, Taghzouti y Le Moal, 1986).

La inervación dopaminérgica a diferentes regiones del sistema olfativo también ha sido involucrada en diversas deficiencias relacionadas con este sentido. Por ejemplo, la aplicación de antagonistas dopaminérgicos en ratas neonatas bloquea la adquisición

de un condicionamiento olfativo (Weldon, Travis y Kennedy, 1991), mientras que durante el entrenamiento de preferencia olfatoria, se registró un incremento en la dopamina extracelular del bulbo olfativo (Coopersmith, Weihmuller, Kirstein, Marshal y Leon, 1991). También ha sido demostrado que es necesaria únicamente la presentación del olor de la comida para que se registre un cambio en los niveles dopaminérgicos en la corteza prefrontal en ratas (D'Angelo y Scatton, 1989), a la vez que la manipulación de la inervación dopaminérgica de la porción ventrolateral del núcleo caudado, produce cambios en la respuesta emocional condicionada específicamente a un estímulo olfatorio, pero no a un estímulo visual (White y Viaud, 1991). Cabe recordar que tanto la inervación dopaminérgica a la corteza prefrontal, como al septum y a la región ventral del núcleo caudado, provienen del sistema mesocorticolímbico (Bjorklund y Lindvall, 1987).

Analizando los antecedentes mencionados, no es de extrañar que la depleción catecolaminérgica de la amígdala de lugar a deficiencias relacionadas con su funcionamiento normal, ya sea la adquisición de la potenciación de la aversión del olor por el gusto (Fernández Ruiz y cols. 1993a), o la adquisición y retención del aprendizaje en una prueba de prevención pasiva (Vu, Intrioni-Collison y McGaugh, 1989).

EL POSIBLE PAPEL DE LA DOPAMINA AMIGDALINA EN LAS DEFICIENCIAS OLFATIVAS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

La disfunción olfatoria en la enfermedad de Parkinson fué el antecedente directo que estimuló la realización del experimento que dió como consecuencia el segundo resultado de esta tesis. Como se mencionó en la introducción, los enfermos de Parkinson padecen deficiencias motoras que se han correlacionado a la disminución de la dopamina mesoestriatal. Sin embargo, también sufren de deficiencias relacionadas con la disminución de la dopamina proveniente del sistema mesocorticolímbico que incluye los problemas de tipo prefrontal (Brown y Marsden, 1990; Taylor y cols. 1986, 1990).

La deficiencia olfatoria de los enfermos de Parkinson pudiera estar relacionada con una baja en la dopamina mesolímbica, ya que los problemas olfatorios en estos pacientes no están relacionados a los problemas motores, ni a los problemas de tipo prefrontal (Doty, Riklan, Deems, Reynolds y Stellar, 1989), además de que como se mencionó en el planteamiento del problema, algunas enfermedades que comparten síntomas con los enfermos de Parkinson no comparten ni las deficiencias olfatorias, ni la depleción dopaminérgica del sistema mesolímbico.

La amígdala es una estructura del sistema límbico cuya innervación dopaminérgica del sistema mesocorticolímbico (Fallon, Koziell y Moore, 1978) disminuye durante el Parkinson (Hornykiewicz y Kish, 1984; Scatton y cols., 1984), y que además recibe una proyección olfatoria tanto del bulbo olfatorio, como de la corteza piriforme (Scalia y Winans, 1975; Veening, 1978). Como se mencionó anteriormente, la depleción catecolaminérgica de la amígdala produce

deficiencias olfatorias, pero no gustativas, en el paradigma conocido como potenciación de la aversión del olor por el gusto (Fernández Ruiz y cols. 1993a).

#### RESTABLECIMIENTO DE LA AVERSION OLFATIVA Y DE LOS NIVELES CATECOLAMINERGICOS POR TRANSPLANTES DE MEDULA ADRENAL

La restauración de la aversión olfatoria en el POAT por trasplante de médula suprarrenal es compatible con una gran cantidad de artículos que sustentan el fenómeno de recuperación conductual por medio de trasplantes de tejido nervioso.

Además del modelo de la vía mesoestriatal, existen otros dos modelos en los que se ha observado el efecto restaurador de los trasplantes sobre conductas de aprendizaje, estos modelos estudian, uno las aferencias al hipocampo y el otro las aferencias a la corteza cerebral.

A continuación discutiré ambos modelos con el propósito de entender algunas pautas generales que gobiernan el fenómeno del restablecimiento de conductas de aprendizaje por medio de trasplantes al cerebro.

#### TRANSPLANTES EN LA FORMACION HIPOCAMPAL.

Se han realizado diferentes experimentos neuroanatómicos para estudiar la inervación del hipocampo por los trasplantes. Por ejemplo, la conexión corteza entorrinal-hipocampo, corre por la vía

perforante y es una de las principales vías de acceso de información con las que cuenta el hipocampo. En una serie de experimentos, Cotman y Kesslak (1988) y Gibbs y Cotman (1987), investigaron la relación neuroanatómica entre estas dos estructuras mediante el implante de corteza entorrinal fetal cerca del hipocampo. Encontraron que el máximo crecimiento e inervación de los trasplantes de corteza entorrinal al hipocampo hospedero se dió cuando se lesionó previamente la corteza entorrinal nativa, pero no cuando se lesionó corteza occipital o área septal. Estos autores (Cotman y Kesslak, 1988) inclusive demuestran que los trasplantes de corteza entorrinal son capaces de inducir recuperación conductual en una prueba de memoria espacial seis meses después de haber lesionado a los sujetos (Gibbs y cols. 1987).

Otro modelo en el que se estudian las aferencias a la formación hipocampal analiza las conexiones del área septal con el hipocampo; esta vía, que contiene gran número de axones colinérgicos, corre por la fimbria-fornix y es de fácil acceso para el investigador. Las lesiones de esta vía depletan de acetilcolina al hipocampo, sin embargo, trasplantes de área septal restablecen los niveles colinérgicos hipocampales selectivamente, ya que inervan únicamente a los campos colinérgicos terminales a los que normalmente proyectan. Cabe recordar que lesiones de la corteza entorrinal no afectan la supervivencia de los trasplantes de área septal, pero sí incrementan la de los trasplantes de corteza entorrinal; de igual manera, la lesión de la fimbria-fornix no repercute en el trasplante de corteza entorrinal, pero sí afecta al de área septal

(Kromer, 1985; Gage y Bjorklund, 1986; Gage y cols., 1985).

En 1982 Low y cols. demostraron que, a diferencia de los animales únicamente lesionados en la fimbria-fornix, aquellos animales que también fueron transplantados con tejido de área septal incrementaron su número de aciertos en un laberinto de 8 brazos cuando se les aplicó un inhibidor de la acetilcolinesterasa (Low y cols. 1982). De igual manera, Dunnett y cols. (1982) demostraron que animales con transplantes de área septal previamente lesionados en la fimbria fornix, aprendieron a alternar en un laberinto de "T" con la misma eficiencia que el control; no así los animales con transplante de locus coeruleus o simplemente lesionados en la fimbria-fornix. Además en este, así como en otros estudios, se ha correlacionado la recuperación conductual con el grado de inervación colinérgica del transplante al hipocampo hospedero (Dunnett y cols. 1982; Cassel, Kelche, Peterson, Ballough, Goepf y Will, 1991; Tarricone, Keim, Simon y Low, 1991). Los estudios de la vía septo-hipocampal también han sido hechos en monos, en donde se ha demostrado que el transplante de neuronas colinérgicas tomadas de la base del cerebro anterior, pero no el transplante de neuronas no colinérgicas, da lugar tanto a la restauración de la conducta como al incremento de los niveles colinérgicos (Ridley, Thornley, Baker y Fine, 1991; Ridley, Gribble, Clark, Baker y Fine, 1992).

La depleción colinérgica del hipocampo también puede ser lograda con inyecciones de AF64A (etilcolin aziridio, fármaco que a ciertas dosis presenta un efecto neurotóxico selectivo para las neuronas colinérgicas); en animales lesionados con este neurotóxico,

los trasplantes al hipocampo tomados de área septal abaten las deficiencias conductuales únicamente cuando restauran los niveles de acetilcolina (Emerich, Black, Kesslak, Cotman y Walsh, 1992); sin embargo, cuando lo que se transplanta son neuronas colinérgicas del estriado, no ocurre la restauración ni de la conducta, ni de los niveles colinérgicos en el hipocampo (Ikegami, Nihonmatsu y Kawamura, 1991). Aunque la acetilcolina ha sido ampliamente correlacionada con la recuperación conductual producida por los trasplantes, también se ha demostrado que trasplantes de área septal que restauran los niveles colinérgicos en el hipocampo, no restablecen la conducta de aprendizaje (Cassel, Kelche, Hornsperger, Jackisch, Hertting y Will, 1990).

Estudios recientes que analizan la influencia de los factores tróficos en los procesos de restauración, han analizado el efecto de la aplicación de factor de crecimiento neuronal (FCN) en animales únicamente lesionados o con trasplante de neuronas colinérgicas (Pallage, Orenstein y Will, 1992). En dicho estudio, se demostró que la aplicación de FCN en ratas lesionadas con o sin trasplante favorecía el aprendizaje de una tarea de laberinto radial (Pallage y cols. 1992); resultados similares se han obtenido con lesiones del hipocampo en sí (Barone, Tandon, McGinty y Tilson, 1991).

Finalmente, cabe mencionar aquellos estudios donde existe una lesión del hipocampo. Woodruff y cols. (1987) transplantaron hipocampo o tallo cerebral fetal en cavidades hechas previamente en el hipocampo del hospedero. Sus resultados indicaron que ambos tipos de trasplantes crecieron y fueron inervados por el hospedero. Sin

embargo, solo observaron la recuperación conductual en una tarea de aprendizaje en el grupo de ratas que recibió transplante de hipocampo. Resultados similares se han obtenido en otros modelos de lesión del hipocampo, en los cuales el transplante induce una recuperación conductual medida en el aprendizaje de un laberinto radial de 8 brazos (Tandon y cols. 1988), en el laberinto de agua de Morris (Sprick y Sprick, 1991) o en otro tipo de laberintos (Kimble y cols. 1986).

A pesar de que se ha demostrado la sobrevivencia, maduración e integración de los transplantes de tejido hipocampal en animales con lesiones del hipocampo (Mudrick y Baimbridge, 1991) la restauración del aprendizaje y de la memoria aún sigue en duda por aquellos investigadores que reportan la acentuación, en vez de la restauración, de las deficiencias conductuales con este tipo de transplantes (Woodruff, Baisden, Nonneman, 1992).

#### TRANSPLANTES EN LA CORTEZA CEREBRAL.

Los estudios realizados en esta estructura siguen generalmente una de dos aproximaciones. A) Lesión de la neocorteza; y B) Lesión de las conexiones corticales, como por ejemplo las aferencias que recibe del núcleo basalis magnocelularis.

#### A.- Lesión de la corteza cerebral.

Los primeros estudios conductuales con transplante de corteza fueron realizados por Labbe y cols. (1983), quienes lesionaron la corteza frontal de ratas y cuantificaron la ejecución de los sujetos en la tarea de laberinto en "T" con alternación forzada. En dichos estudios encontraron que las ratas lesionadas ejecutaron la tarea al azar, mientras que aquellas ratas que recibieron el transplante de corteza, mejoraron significativamente su ejecución. Cabe mencionar que las pruebas conductuales fueron llevadas a cabo poco tiempo después de haber realizado el transplante, por lo que los autores consideran que es difícil que se haya establecido algún tipo de reconstrucción de las vías o circuitos involucrados en dicha conducta (Labbe y cols. 1983); esta conclusión es apoyada por Cicirata, Serapide, Nicotra y Raffaele (1992) al demostrar que aunque transplantes de corteza motora potencian la recuperación conductual en ratas previamente lesionadas en la corteza motora, el transplante no presenta algún tipo de organización, ni manda referencias al tálamo del hospedero.

En 1986, Kesslak y cols. encontraron de manera sorprendente que en ratas con lesión de la corteza frontal, los transplantes de astrocitos purificados aceleraron la recuperación de la capacidad de aprendizaje en una prueba de laberinto en "T" de alternación forzada, alcanzando la misma tasa de aprendizaje que los controles; sugiriendo que en este caso, no es necesaria la presencia neuronal para el restablecimiento de la ejecución de una tarea de aprendizaje (Kesslak y cols. 1986).

Sin embargo, otros grupos sí han encontrado el establecimiento

de conexiones hospedero-transplante cortical, como son aquellos estudios realizados en el modelo de la vía tálamo-cortical. Por ejemplo, en los trasplantes realizados en la corteza occipital, se ha observado el restablecimiento de la vía núcleo geniculado lateral-corteza occipital, aunque no se ha estudiado en este caso algún modelo conductual. Otra aproximación en este sentido es la comunicada por Isacson y cols. (1988), donde encuentran el establecimiento de conexiones del transplante cortical con el núcleo basalis magnocelularis así como con el locus coeruleus, en ratas previamente lesionadas con kainato o con N-metil-D-aspartato (NMDA). Además demuestran la actividad de la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), la colinacetil transferasa (ChAT) y la captura de ácido glutámico tritiado dentro de los trasplantes. Basados en esos datos los autores postulan la existencia de conexiones y la funcionalidad metabólica de los trasplantes (Isacson y cols. 1988).

Finalmente, los estudios más aproximados a un modelo de integración funcional de un transplante neuronal, son los trabajos publicados por el grupo de Ebner (Ebner, 1988; Ebner y cols., 1989), donde se observó la inervación funcional del tálamo al transplante de corteza sensoriomotora. El procedimiento que siguieron se dividió en cuatro fases: a) Sección de la rama infraorbital del nervio trigémino. b) Lesión cortical seguida inmediatamente por el implante de tejido embrionario neocortical. c) Registro unitario de las neuronas del transplante y de la corteza hospedera. d) Análisis del crecimiento de las fibras tálamo-corticales dentro del transplante mediante el uso de peroxidasa de rábano. Estos investigadores

encontraron que en los sujetos con lesión previa del nervio trigémino, el 22% de las neuronas registradas dentro del transplante responden a la estimulación del trigémino o del movimiento de las vibrisas, siendo el 85% en los sujetos normales. Además, encontraron la presencia de peroxidasa de rábano en el transplante con lo cual demostraron el establecimiento de conexiones entre el transplante cortical y el tálamo del hospedero (Ebner, 1988; Ebner y cols. 1989).

#### B.- Lesión de las conexiones corticales.

Con respecto a esta segunda aproximación, el modelo a seguir está basado en los hallazgos que se han obtenido en el estudio de la enfermedad de Alzheimer y el envejecimiento. En dichos trabajos se ha reportado el decaimiento de los niveles, entre otros neurotransmisores, de la noradrenalina (Zornetzen, Thompson y Rogers, 1982) y la acetilcolina (Coyle y cols. 1983) en la corteza cerebral. Además, se ha observado la degeneración tanto de la corteza como del hipocampo (Price, 1986).

Existen varios modelos experimentales que comparten algunas características con la enfermedad de Alzheimer, y que pueden ser de provecho para la investigación; este es el caso de los animales viejos que presentan deficiencias cognoscitivas o motoras, medibles experimentalmente (Price, 1986; Drucker Colín y García Hernández, 1991). Sin embargo, también se han utilizado otros modelos experimentales, como la lesión del núcleo basalis magnocelularis

(NBM), que semejan a la enfermedad de Alzheimer. La lesión de este núcleo produce una depleción de acetilcolina en la corteza cerebral, así como deficiencias conductuales que pudieran semejar a las presentadas por los enfermos de Alzheimer (Smith, 1988; Gage y cols. 1985; Dunnett, Toniolo, Fine, Ryan, Bjorklund y Iversen, 1985; López-García, Fernández-Ruiz, Bermúdez-Rattoni y Tapia, 1991).

En 1985, Fine y cols. publicaron que transplantes de tejido del cerebro anterior fetal, mejoran la ejecución de una prueba de prevención pasiva en ratas con lesiones previas del núcleo basalis magnocelularis (Fine y cols. 1985). Aun mas, en un modelo de ratas viejas, Dunnett y cols. (1988) y Collier y cols. (1988) encontraron que transplantes colinérgicos y noradrenérgicos respectivamente, fueron capaces de mejorar tareas de aprendizaje en ratas viejas que habían mostrado deficiencias conductuales previas al transplante.

Las deficiencias en el aprendizaje y en la memoria producidas por lesiones del NBM, han sido revertidas con autotransplantes en la neocorteza de ganglios ricos en neuronas colinérgicas (Itakura, Yokote, Yudawa, Nakai, Komai y Umemoto, 1990; Itakura, Umemoto, Kamei, Imai, Yokote, Yukawa y Komai, 1992); con transplantes neocorticales de NBM (Santucci, Kanof y Haroutunian, 1991; Sinden, Allen, Rawlins y Gray, 1990) y con transplantes a la corteza cerebral, de células cromafines (Welner, Koty y Boksa, 1990). Sin embargo, la mejoría conductual con transplantes de células colinérgicas del NBM en la neocorteza no fue observado cuando las células se transplantaron al NBM (Hodges, Allen, Kershaw, Lantos, Gray y Sinden, 1991), ni cuando se transplantaron células no

colinérgicas (Sinden y cols. 1990).

#### RESTABLECIMIENTO DE UN TIPO DE APRENDIZAJE: EL CASO DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES.

La lesión de la corteza insular da lugar a deficiencias en la aversión aprendida al gusto en el paradigma conocido como el condicionamiento aversivo a los sabores.

En 1987 Bermúdez-Rattoni, Fernández-Ruiz, Sánchez, Aguilar Roblero y Drucker-Colín, demostraron que animales con deficiencias en el aprendizaje gustativo por lesiones de la corteza insular, recuperan la aversión aprendida al gusto después de haber recibido transplantes de corteza insular fetal. Los transplantes de corteza insular a la vez que inducen la recuperación conductual, también establecen conexiones tanto con el tálamo, como con la amígdala del hospedero (Escobar, Fernández-Ruiz, Guevara-Aguilar y Bermúdez-Rattoni, 1989). La recuperación conductual inducida por los transplantes en este modelo es gradual, ya que a los 15 días post-transplante aun no hay mejoría, pero esta ya se observa a partir de los 30 días; dicha mejoría es acompañada por un incremento en la tinción de acetilcolinesterasa dentro del transplante, así como por la conexión del transplante con el tálamo y la amígdala del hospedero (Fernández Ruiz, Escobar, Piña, Díaz-Cintra, Cintra-McGlone y Bermúdez Rattoni, 1991). Finalmente cabe mencionar que después de 120 días de transplantados con corteza fetal, sujetos previamente lesionados en la corteza insular muestran pérdida del

CAS. Es decir 120 días después ya no se encuentra el efecto restaurador del trasplante (Escobar y cols. 1993)

De los tres modelos revisados anteriormente es posible obtener algunas pautas generales que se han concluido respecto a los trasplantes de tejido nervioso.

1.- Los trasplantes de tejido nervioso son capaces de sobrevivir en un hospedero de su misma especie.

2.- Los trasplantes de tejido nervioso son capaces de expresar marcadores fisiológicos normales que reflejan su funcionamiento dentro del hospedero.

3.- Los trasplantes de tejido nervioso son capaces de establecer conexiones recíprocas con el hospedero.

4.- Finalmente, los trasplantes de tejido nervioso son capaces de inducir recuperación funcional de conductas previamente perdidas por el hospedero, inclusive tareas de aprendizaje (Bermúdez-Rattoni y cols. 1987; Escobar y cols. 1989; Fernández Ruiz y cols. 1990), o más aún, de conductas innatas (Paredes y cols. 1989).

Tomando en cuenta estas pautas, no es difícil de entender porque diferentes grupos de investigación han reportado el efecto benéfico de los trasplantes en el aprendizaje, entre los que se incluyen, además de los resultados presentados en esta tesis (Fernández-Ruiz y cols. 1993b), la recuperación de tareas de aprendizaje inducida por trasplantes de médula adrenal (Welner, Koty y Boksa, 1990), y la restauración de la conducta de

aprovisionamiento en la rata (Herman, Choulli, Geffard, Nadaud, Taghzouti y Le Moal, 1986). La recuperación inducida por transplantes también ha sido ampliamente demostrada en las proyecciones dopaminérgicas mesencefálicas en modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson (Bjorklund y Stenevi, 1979; Perlow, Freed, Hoffer, Seiger, Olson y Wyatt, 1979); dando dichos resultados como consecuencia, la aplicación directa de esta técnica a los enfermos de Parkinson (Drucker-Colín, Madrazo, Ostrosky-Solís, Shkurovich, Franco y Torres, 1988; Goetz, y cols., 1989; Freed y cols., 1992).

El restablecimiento de la conducta olfativa en los sujetos con transplante de médula suprarrenal fue acompañado por el restablecimiento de los niveles catecolaminérgicos en la amígdala. Este resultado es similar a los modelos experimentales donde la recuperación conductual es acompañada por la restauración de los niveles de acetilcolina tanto en el hipocampo (Dunnett y cols. 1982; Cassel y cols., 1991; Tarricone y cols. 1991; Ridley y cols. 1991; Ridley y cols. 1992; Emerich y cols., 1992) como en la corteza cerebral (Fine y cols. 1985; Dunnett y cols. 1988; Itakura y cols. 1992); también es compatible con la hipótesis que sugiere que es el restablecimiento de los niveles de dopamina por el transplante, el responsable de la restauración conductual en los modelos de insuficiencia dopaminérgica en el estriado por lesión de la vía nigro-estriatal (Bjorklund y Stenevi, 1979).

#### **MECANISMO DE ACCION DE LOS TRANSPLANTES**

El mecanismo de los trasplantes para inducir la recuperación conductual es aún incierto (Drucker Colín, García Hernández, Mendoza Ramírez, Pacheco-Cano y Komisaruk, 1990), sin embargo basandose en la discusión anterior, se pueden plantear las siguientes posibilidades:

+ Los trasplantes sustituyen correctamente la circuitería normal de la zona afectada (Ebner, 1988; Ebner y cols., 1989).

Respecto a los trasplantes de células dopaminérgicas, se ha demostrado que después de transplantar células dopaminérgicas en el estriado denervado de dopamina, las células transplantadas reinervan al tejido que lo rodea, formando contactos sinápticos con dendritas y cuerpos celulares de las neuronas esriatales del hospedero (Freund, Bolam, Bjorklund, Stenevi, Dunnett, Powell y Smith, 1985; Mahalik, Finger, Stromberg, y Olson, 1985). Este crecimiento de fibras parece depender de la interacción específica con el tejido circundante, ya que unicamente es visto cuando las neuronas dopaminérgicas son colocadas en una region normalmente innervada con dopamina, como el estriado, el núcleo acumbens o la corteza frontal, pero permanece confinado al sitio del implante cuando el trasplante es colocado en una region no dopaminérgica. Aún más, el crecimiento de fibras total se reduce considerablemente (alrededor del 50 %) si la inervacion dopaminérgica intrinseca está intacta (Douget, Brundin, Descarries y Bjorklund, 1990).

+ Los trasplantes sirven como fuentes que sustituyen

adecuadamente sustancias endógenas necesarias para el funcionamiento normal del sistema nervioso (Dunnet y cols. 1982; Cassel, Kelche, Peterson, Ballough, Goepp y Will, 1991; Tarricone, Keim, Simon y Low, 1991).

A pesar de que se ha demostrado la formación de conexiones entre el transplante y el hospedero, esto no descarta la posibilidad de que los transplantes liberen dopamina extrasinápticamente. Se ha observado que la normalización de la supersensibilidad de los receptores dopaminérgicos no se limita únicamente al área inervada por el transplante en el estriado previamente denervado, sino que se extiende más allá del área que alcanzan los axones que emergen del transplante (Savasta, Mennicken, Chritin, Abrous, Feuerstein, Le Moal y Herman, 1992; Chritin, Savasta, Mennicken, Bal, Abrous, LeMoal, Feuerstein y Herman, 1992). Observaciones similares se han encontrado en la normalización de la expresión de encefalina (Manier, Abrous, Feuerstein, LeMoal y Herman, 1991) y Fos (Cenci, Kalen, Mandel, Wictorin y Bjorklund, 1992). Estos datos sugieren que la dopamina liberada del transplante alcanza niveles funcionales en áreas que se extienden más allá de las fibras del transplante. Esta hipótesis es apoyada también por los datos de Stromberg, Van Horne, Bygdeman, Weiner y Gerhardt (1991) que sugieren que en el estriado previamente denervado, la dopamina liberada de los transplantes es eliminada mucho más despacio que en el estriado normal, probablemente por la ausencia de un sistema de recaptura eficiente.

+ Los trasplantes liberan sustancias que funcionan como factores tróficos y que sirven para mantener viables a diversas poblaciones neuronales (Barone y cols. 1991).

Debido a lo extenso del tema de los factores tróficos, la siguiente discusión abarcara únicamente la relación de dichos factores con los trasplantes.

Se ha demostrado que los factores tróficos son capaces de evitar la degeneración neuronal de células colinérgicas del cerebro anterior que degenerarían después de la lesión de la conexión septo-hipocámpal. Este es el caso de la administración intraventricular de NGF (nerve growth factor) en monos (Koliatsos, Nauta, Clatterbuck, Holtzman, Mobley y Price, 1990; Tuszynski, Amaral y Gage, 1990). Con respecto a las células dopaminérgicas, se ha demostrado que el estriado denervado produce factores tróficos que incrementan la supervivencia de neuronas dopaminérgicas fetales in vitro (Nijima, Araki, Ogawa, Nagatsu, Sato, Kimura y Yoshida, 1990). También se ha demostrado que la administración en cultivo de BDNF (brain derived neurotrophic factor) incrementa la supervivencia de las células embrionarias de mesencéfalo ventral inmunoreactivas a TH (Hyman, Hofer, Barde, Juhasz, Yancopoulos, Squinto y Lindsay, 1991).

Finalmente cabe mencionar otro posible efecto producido por los trasplantes. Takashima, Poltorak, Becker y Freed (1992) investigaron el efecto de trasplantes de médula adrenal en ratas con lesiones unilaterales de sustancia nigra. Ellos encontraron que los trasplantes, pero no las lesiones control, disminuyeron la conducta de giro inducida con apomorfina. Lo novedoso de este

experimento radicó en que también exploraron el efecto de la adrenalectomia bilateral en ratas con transplante de médula adrenal, pero que habían sido previamente lesionadas en la sustancia nigra. Sus resultados indicaron que el transplante disminuyó el giro inducido por apomorfina, pero la adrenalectomia disminuyó a su vez el efecto del transplante. Es decir el grupo adrenalectomizado no disminuyó tanto el número de giros como el que recibió el transplante, pero que tenía completas sus glándulas suprarrenales. Esto sugiere que el transplante afectó la recuperación conductual de dos formas, una específica del transplante de médula suprarrenal, otra que requiere una glándula adrenal intacta, y pudiera estar relacionada a los incrementos de las concentraciones catecolaminérgicas plasmáticas.

Con base en la discusión anterior se deduce que aún no se sabe con exactitud el o los mecanismos que dan como resultado la recuperación funcional que se observa en los diferentes modelos experimentales. Sin embargo cabe notar que dichos mecanismos no tienen porque ser excluyentes y probablemente pudieran estar actuando en conjunto.

#### CONCLUSIONES

Los primeros resultados obtenidos en esta tesis demuestran que la lesión catecolaminérgica en una región del sistema nervioso central involucrada en el olfato, es capaz de dar lugar a una disfunción olfatoria que se refleja en la pérdida selectiva de la

aversión olfatoria en el paradigma del PAOG.

En los resultados obtenidos en el segundo artículo que forma parte de esta tesis, se demuestra que el trasplante de células de la médula suprarrenal es capaz tanto de restaurar la aversión olfatoria, como de reestablecer los niveles catecolaminérgicos en la amígdala, sin producir efectos deletorios colaterales ni tener efectos sobre el gusto.

Queda por determinar si en los enfermos de Parkinson la disminución dopaminérgica en la amígdala que ocurre a lo largo de esta enfermedad (Hornykiewitz y Kish, 1986; Scatton, Javoy-Agid, Montfort, Agid, 1984) contribuye a los problemas olfativos que presentan estos pacientes.

## BIBLIOGRAFIA

Andy, O.J., Jurko, M.F. and Hughes, J.R. 1975. The amygdala in relation to olfaction. *Confin. Neurol.* 37:215-222

Ansary and Johnson. 1975. Olfactory function in patients with Parkinson's disease. *J.Chron. Dis.* 28:493-497.

Bankiewicz, K.S. Plunkett, R.J., Jacobowitz, D.M., Porrino, L. de Porizio, U., London, W.T., Kopin, I.J. and Oldfield, E.H. 1990. The effect of fetal mesencephalon implants on primate MPTP-induced parkinsonism. Histochemical and behavioral studies. *J. Neurosurg.* 72:231-244.

Barone, S.Jr., Tandon, P., McGinty, F.F. and Tilson, H.A. 1991. The effects of NGF and fetal cell transplants on spatial learning after intradentate administration of colchicine. *Exp. Neurol.* 114:351-363.

Baylis, L.L. and Gaffan, D. 1991. Amygdalectomy and ventromedial prefrontal ablation produce similar deficits in food choice and in simple object discrimination learning for an unseen reward. *Exp. Brain Res.* 86, 617-622

Beaulieu, N. Morris, R. Petrides, M. 1988. Lesions of the basolateral amygdala and of the pyriform cortex impair acquisition of a conditioned odor preference. *Neurosci Abstr.* 14:1226

Bermúdez-Rattoni, F., Fernández, J. Sánchez, M.A., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R. 1987. Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning. *Brain Res.* 416:147-152

Bermúdez-Rattoni, F., Rusiniak, F.K. and Garcia, J. 1983. Flavor-Illness aversions: Potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. *Behavioral and Neural Biology.* 37:61-75.

Best, M.R., Batson, J. D., Meachum, C.L., Brown, E.R., and Ringer, M. 1985. Characteristics of taste-mediated environmental potentiation in rats. *Learning and Motivation,* 16:190-209.

Bjorklund, A., and Lindvall, O. 1987. Catecholaminergic brain stem regulatory systems. *Handbook of Neurophysiology.* Chapter 13. pp. 677-700.

Bjorklund, A. and Stenevi, U. 1979. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res.* 177:555-560.

Bondi M.W. and Kaszniak, A.W. Implicit and explicit memory in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 1991. 13:339-358.

Brett, L.P., Hankins, W.G. and Garcia, J. 1976. Prey-lithium aversions. III. Buteo Hawks. Behavioral Biology, 17:87-98. 98.

Brown R.G. and Marsden C.D. Cognitive function in Parkinson's disease: from description to theory. TINS 1990 13:21-29.

Brozoski, T.J., Brown, R.M., Rosvold, H.E., Goldman, P.S. 1979. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of Rhesus monkeys. Science; 205:929-932.

Bruna, O., Junque, C., Vendrell, P., Roig, C. and Grau-Veciana, J.M. 1992. Memory changes in Parkinson's disease. Relation with clinical variables. Neurologia. 7:55-60.

Busenbark, K.L., Huber, S.J., Gree, G., Pahwa, R. and Koller, W.C. 1992. Olfactory function in essential tremor. Neurology, 42:1631-1632

Cain, D.P. and Bindra, D. 1972. Responses of amygdala single units to odors in the rat. Exp. Neurol. 35:98-110.

Cassel, J.C., Kelche, C., Hornsperger, J.M., Jackisch, R., Hertting, G. and Will, B.E. 1990. Graft-induced learning impairment despite graft-enhanced cholinergic functions in the hippocampus of rats with septohippocampal lesions. Brain.Res. 534:295-298.

Cassel, J.C., Kelche, C., Peterson, G.M., Ballough, G.P., Goepf, I. and Will, B. 1991. Graft-induced behavioral recovery from subcallosal septohippocampal damage in rats depends on maturity stage of donor tissue. Neuroscience; 45:571-586

Cenci, M.A., Kalen, P., Mandel, R.J., Wictorin, K. and Bjorklund, A. 1992. Dopaminergic transplants normalize amphetamine and apomorphine induced Fos expression in the 6-hydroxydopamine lesioned striatum. Neuroscience. 46:943-957.

Cictrata, F., Serapide, M.F., Nicotra, G. and Raffaele, R. 1992. Homotopic transplant of fetal cortex to lesioned motor cortex of adult rats. A compartmental and anatomical study. Arch. Ital. Biol. 130:101-111.

Coil, J.D., Rogers, R.C., Garcia, J. and Novin, D. 1978. Conditioned taste aversion: Vagal and circulatory mediation of the toxic unconditioned stimulus. Behav. Biol. 24:509-519

Collier, T.J., Gash, D.M. and Sladek, Jr. J.R. 1988. Transplantation of norepinephrine neurons into aged rats improves performance of a learned task. Brain Res. 448:77-87

Cooper, J. R., Bloom, F.E. and Roth, R.H. 1991. The biochemical basis of neuropharmacology, 6th ed. Oxford University Press. New York.

Coopersmith, R., Weihmuller, F.B., Kirstein, C.L., Marshal, J.F.

and Leon, M. 1991. Extracellular dopamine increases in the neonatal olfactory bulb during odor preference training. *Brain Res.* 564:149-153.

Cotman, C.W. and Kesslak, J.P. 1988. The role of trophic factors in behavioral recovery and integration of transplants. *en Progress in Brain Research.* Elsevier. 78:311-319

Coyle, J. T., Price, D.L. and De Long, M. R. 1983. Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. *Science.* 219:1184-1190

Chambers, K.C. 1990. A neural model for conditioned taste aversions. *Annu. Rev. Neurosci.* 13:373-385.

Chiueh, C.C., Burns, R.S., Markey, S.P., Jacobowitz, D.M., and Kopin, I. J. 1985. Primate model of parkinsonism: selective lesion of nigro-striatal neurons by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine produces an extrapyramidal syndrome in Rhesus monkeys. *Life Sci.* 36:213-218.

Chritin, M., Savasta, M., Mennicken, F., Bal, A., Abrous, D.N., Le Moal, M. Feuerstein, C., Herman, J.R. 1992. Intra-striatal dopamine rich implants reverse the increase of dopamine D2 receptor mRNA levels caused by lesion of the nigrostriatal pathway: a Quantitative In Situ hybridization study. *Eur. J. Neurosci.* 4:663-672.

Deutch, A.Y., M. Goldstein, F. Baldino and Roth R.H. *Ann.N.Y. Acad. Schi.* 537:27-50.

Dewick, H.C., Hanley, J.R., Davies, A.D., Playfer, J. and Turnbull, C. 1991. Perception and memory for faces in Parkinson's disease. *Neuropsychologia.* 29:785-802.

Domesick, V.B. 1988. Neuroanatomical organization of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Ann. N.Y. Acad Sci.* 537:10-26.

Doty, R.L., Deems, D. and Stellar, S. 1988. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration. *Neurology.* 38:1237-1244.

Doty, R.L., Riklan, M., Deems, D.A., Reynolds, C., Stellar, S. 1989. The olfactory deficits of Parkinson's disease: evidence for independence. *Ann. Neurol.* 25:251-256

Doty, R.L. Shaman, P. and Applebaum, S.L. 1984. Smell identification ability: changes with age. *Science.* 226:1441-1443.

Doty, R.L., Shaman, P. and Dann, M., 1984. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol. Behav.* 32:489-502.

Doty, R.L., Singh, A., Tetrud, J. and Langston, J.W. 1992. Lack of major olfactory dysfunction in MPTP-induced parkinsonism. *Ann. Neurol.* 32:97-100

Douget, G., Brundin, P., Descarries, L. and Bjorklund, A. 1990. Effect of prior denervation on survival and fiber outgrowth from intrastriatal fetal mesencephalic grafts. *Eur. J. Neurosci.* 2:279-290.

Drucker-Colín, R. and García Hernández, F. 1991. A new motor test sensitive to aging and dopaminergic function. *J. Neurosci. Meth.* 39: 153-161.

Drucker-Colín, R., García Hernandez, F., Mendoza Ramirez, J.L., Pacheco, M.R. and Komisaruk, B.R. 1990. Possible mechanisms of action of adrenal transplants in Parkinson's disease. *Prog. in Brain Res.* 1990. 82:509-514.

Drucker-Colín, R., Madrazo, I., Ostrosky-Solis, F., Shkurovich, M., Franco, R. and Torres, C. 1988. Adrenal medullary tissue transplants in the caudate nucleus of Parkinson's patients. *Prog. Brain Res.* 78:567-574

Dunn, L.T. and Everitt, B.J. 1988. Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversion, passive avoidance and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behav. Neurosci.* 102:3-23.

Dunnett, S.B., Badman, F., Rogers, D.C., Evenden, J. L. and Iversen, S. D. 1988. Cholinergic grafts in the neocortex or hippocampus of aged rats: reduction of delay-dependent deficits in the delayed non-matching to position task. *Exp. Neurol.* 102:57-64

Dunnett, S.B., Low, W.C., Iversen, S.D., Stenevi, U. and Bjorklund, A. 1982. Septal transplants restore maze learning in rats with fornix-fimbria lesions. *Brain Res.*, 251:335-348

Dunnett, S.B., Toniolo, G., Fine, A., Ryan, C.N., Bjorklund, A. and Iversen, S. D. 1985. Transplantation of embryonic ventral forebrain neurons to the neocortex of rats with lesions of nucleus basalis magnocellularis. II. Sensorimotor and learning impairments. *Neuroscience.* 16:787-797

Ebner, F.F. 1988. The development of functional connections between transplanted embryonic and mature cortical neurons. *en Progress in Brain Research.* 78:3-11

Ebner, F.F., Erzurumlu, R. S. and Lee, S. M. 1989. Peripheral nerve damage facilitates functional innervation of brain grafts in adult sensory cortex. *P.N.A.S.* 86:730-734

Eichenbaum, H., Morton, T.H. Potter, H., Corkin, S. 1983. Selective olfactory deficits in case H.M. *Brain.* 106:459-472.

Emerich, D.F., Black, S.A., Kesslak, J.P., Cotman, C.W. and Walsh, T.J. 1992. Transplantation of fetal cholinergic neurons into the hippocampus attenuates the cognitive and neurochemical deficits induced by AF64A. *Brain. Res. Bull.* 28:219-226.

Escobar, M., Fernández-Ruiz, J., Guevara-Aguilar, R. and Bermúdez Rattoni, F. 1989. Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesions. *Brain Res.* 478:368-374

Eskenazi, B., Cain, W.S., Novelly, R.A. and Friend, K.B. 1983. Olfactory functioning in temporal lobectomy patients. *Neuropsychologia.* 21:365-374.

Eskenazi, B., Cain, W.S., Novelly, R.A., Mattson, R. 1986. Odor perception in temporal lobe epilepsy patients with and without temporal lobectomy. *Neuropsychologia.* 24:553-562.

Fallon, J.H., Koziell, D.A. and Moore, R. 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. *J. Comp. Neurol.* 180:509-532.

Fallon, J.H. and Moore, R.Y. 1978. Catecholamine innervation of basal forebrain. III. Olfactory bulb, anterior olfactory nuclei, olfactory tubercle and piriform cortex. *J. Comp. Neurol.* 180: 533-544.

Fallon, J.H. and Moore, R. Y. 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV Topography of dopamine cell projections to the basal forebrain and neostriatum. *J. Comp. Neurol.* 180:545-580.

Fernández Ruiz, J. 1993. Enfermedad de Alzheimer y Memoria: Una revisión bibliográfica. *Ciencia (En prensa).*

Fernández-Ruiz, J., Escobar, M.L., Piña, A.L., Díaz-Cintra, S., Cintra-McGleone, F.L., and Bermúdez-Rattoni, F. 1991. Time depends recovery of taste aversion learning by fetal brain transplants in gustatory neocortex lesioned rats. *Behavioral and Neural Biology.* 55:179-193.

Fernández Ruiz, J., Guzmán, R., Martínez, M.D., Miranda, M.I., Bermúdez-Rattoni, F. and Drucker-Colín, R. Adrenal medullary grafts restore olfactory deficits and catecholamine levels of 6-OHDA amygdala lesioned animals. *J. Neural Transp. and Plast.* (En prensa).

Fernández-Ruiz, J., Miranda, M.I., Bermúdez-Rattoni, F. and Drucker-Colín, R. 1993. Effects of catecholaminergic depletion of the amygdala and insular cortex on the potentiation of odor by taste aversions. *Behav. and Neural. Biol.* (En prensa).

Fine, A., Dunnett, S.B., Bjorklund, A., Clark, D. and Iversen, S.D. 1985. Transplantation of embryonic ventral forebrain neurons to the neocortex of rats with lesions of nucleus basalis magnocellularis.

I. Biochemical and anatomical observations. Neuroscience. 16:769-786

Fine, A. Dunnet, S.B., Bjorklund, A. and Iversen, S.D. 1985. Cholinergic ventral forebrain grafts into the neocortex improve passive avoidance memory in a rat model of alzheimer disease. P.N.A.S. 82:5227-5230

Fischer, P., Kendler, P. and Goldenberg, G. 1990. Recency-primacy recognition in PD. J.Neural. Transm. Park. Dis. Dement. Sect. 2:71-77.

Flaherty, 1986. Animal Learning and Cognition. Plenum Press.

Freed, C.R., Breeze, R.W., Rosenberg, N.L. y cols. 1992. Survival of implanted fetal dopamine cells and neurologic improvement 12 to 46 months after transplantation for Parkinson's disease. N. Engl. J. Med. 327:1549-1555.

Freed, W.J., Morihisa, J., Spoor, E., Hoffer, B., Olson, L., Seiger, A., Wyatt, R.J. 1981. Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. Nature. 292:351-352.

Freund, T.F., Bolam, J.P., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnet, S.B., Powell, J.F. and Smith, A.D. 1985. Efferent synaptic connections of grafted dopaminergic neurons reinnervating the host neostriatum: A tyrosine hydroxylase immunocytochemical study. J. Neurosci. 5:603-616.

Fuxe, K., Hokfelt, T., Hohansson, O., Jonsson, G., Lidbrink P. and Ljungdahl. A. 1974. The origin of the dopamine nerve terminals in limbic and frontal cortex. Evidence for mesocortical dopamine neurons. Brain Res. 82:349-355.

Gaffan, D. 1992. Amygdala and the Memory of Reward. en "The amygdala: neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction, J.P. Aggleton ed. pp. 471-483. Wiley-Liss, NY.

Gage, F.H. and Bjorklund, A. 1986. Enhanced graft survival in the hippocampus following selective denervation. Neuroscience 17:89-98

Gage, F.H., Bjorklund, A. Stenevi, U. and Dunnett, S.B. 1985. Grafting of embryonic CNS tissue to the damaged adult hippocampal formation. en Neural Grafting in the Mammalian CNS. pp 559-573

Garcia, J. Food for Tolman: Cognition and Cathexis in Concert. 1989 En "Aversion, Avoidance and Anxiety" Archer and Nilsson Eds. LEA. Hillside pp 45-85.

Garcia, J., Ervin, F.R. and Koelling, R.A. 1966. Learning with prolonged delay of reinforcement. Psychon. Sci. 5:121-122.

Garcia, J., Kimeldorf, D.J. and Koelling, R.A. 1955. Conditioned

aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science* 122:157-158.

Garcia, J. and Koelling, R.A. 1966. Relation of cue to consequence in avoiding learning. *Psychon. Sci.* 4:123-124.

Gibbs, R.B. and Cotman, C.W. 1987. Factors affecting survival and outgrowth from transplants of entorhinal cortex. *Neuroscience* 21:699-706

Gibbs, R.B., Yu, J. and Cotman, C.W. 1987. Entorhinal transplants and spatial memory abilities in rats. *Behav. Brain Res.* 26:29-35

Goetz, C.G., Olanow, G.W. Koller, W.C., y cols. 1989. Multicenter study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with advanced Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 320:337-342.

Harrington, D.L., Haaland, K.Y. Yeo, R.A. and Marder, E. 1990. Procedural memory in Parkinson's disease: impaired motor but not visuoperceptual learning. *J.Clin. Exp. Neuropsychol.* 12:323-339.

Herman, J.P., Choulli, K., Geffard, M., Nadaud, S., Taghzouti, K. and Le Moal, M. 1986. Reinnervation of the nucleus accumbens and frontal cortex of the rat by dopaminergic grafts and effects on hoarding behavior. *Brain Res.* 372:210-216.

Hyman, C., Horer, M., Barde, Y-A., Juhasz, M., Yancopoulos, G.D., Squinto, S.P. and Lindsay, R.M. 1991. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature.* 350:230-232.

Hodges, H., Allen, Y., Kershaw, T., Lantos, P.L., Gray, J.A. and Sinden, J. 1991. Effects of cholinergic-rich neural grafts on radial maze performance of rats after excitotoxic lesions of the forebrain cholinergic projection system. I. Amelioration of cognitive deficits by transplants into cortex and hippocampus but not into basal forebrain. *Neuroscience* 45:587-607.

Holland, P.C. 1981. Acquisition of representation-mediated conditioned food aversions. *Learning and Motivation*, 12:1-8.

Horellou, P., Brundin, P., Halen, P., Mallet, J. and Bjorklund, A. In vivo release of DOPA and dopamine from genetically engineered cells grafted to the denervated rat striatum. *Neuron.* 5:393-402.

Hornykiewicz, O. and Kish, S.J. 1986. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 45:19-34.

Hughes, J.R. and Andy, O.J. 1979. The human amygdala. II. Neurophysiological correlates of olfactory perception before and after amygdalotomy. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 46:444-451.

Ikegami, S., Nihonmatsu, I. and Kawamura, H. 1991. Transplantation of ventral forebrain cholinergic neurons to the hippocampus ameliorates impairment of radial-arm maze learning in rats with AF64A treatment. *Brain Res.* 548:187-195.

Isacson, O., Wictorin, K., Fischer, W., Sogroniew, M.V. and Bjorklund, A. 1988 Fetal cortical cell suspensions grafts to the excitotoxically lesioned neocortex: anatomical and neurochemical studies of trophic interactions. in *Progress in Brain Research.* 78:13-26

Itakura, T., Yokote, H., Yudawa, S., Nakai, M., Komai, N. and Umemoto, M. 1990. Transplantation of peripheral cholinergic neurons into Alzheimer model rat Brain. *Stereotact. Funct., Neurosurg.* 54:368-372

Itakura, T., Umemoto, M., Kamei, I., Imai, H., Yokote, H., Yukawa, S. and Komai, N. 1992. Autotransplantation of peripheral cholinergic neurons into the brains of Alzheimer model rats. *Acta. Neurochir.* 115:127-132.

Jackson, J.A., Jankovic, J. and Ford, J. 1983. Progressive supranuclear palsy: clinical features and response to treatment in 16 patients. *Ann Neurol*, 13:273-278.

Karamat, E. Ilmberger, J., Poewe, W. and Gerstenbrand, F. 1991 Memory dysfunction in Parkinson patients: an analysis of verbal learning processes. *J. Neural. Transm. Suppl.* 33:93-97.

Kesslak, J.P., Walencewicz, A., Calia, L., Nieto-Sampedro, M. and Cotman, C.W. 1986. Hippocampal but not astrocyte transplants enhance recovery on a forced choice alternation task after kainate lesions. *Brain Res.* 454:357-354

Kilts, C. D., Anderson, C.M., Ely, T.D., Mailman, R.B. 1988. The biochemistry and pharmacology of mesoamygdaloid dopamine neurons. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 537:173-187.

Kimble, D.P., Bremiller, R. and Stickrod, G. 1986. Fetal brain implants improve maze performance in hippocampal lesioned rats. *Brain Res.* 363:358-363

Knupfer, L. and Spiegel, R. 1986. Differences in olfactory test performance between normal aged, Alzheimer and vascular type dementia individuals. *Int. J. Geriatr Psychiat.* 1:3-14.

Koliatsos, V.E., Nauta, H.J.W., Clatterbuck, R.E., Holtzman, D.M., Mobley, W.C. and Price, D.L. 1990. Mouse nerve growth factor prevents degeneration of axotomized basal forebrain cholinergic neurons in the monkey. *J. Neurosci.* 10:3801-3813.

Koob, G.F. and Swerdlow, N.R. 1988. The functional output of the mesolimbic dopamine system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 537:216-217

Kromer, L. F. 1985 Factors in neural transplants which influence regeneration in the mature mammalian central nervous system. *en Neural Grafting in the Mammalian CNS.* pp 309-318

Labbe, R., Firl, Jr. A., Mufson, E.J. and Stein, D.G. 1983. Fetal brain transplants: reduction of cognitive deficits in rats with frontal cortex lesions. *Science*, 221:470-472

Lange, K.W., Robbins, T.W., Marsden, C.D., James, M., Owen, A.M. and Paul, G.M. 1992. L-dopa withdrawal in Parkinson's disease selectively impairs cognitive performance in tests sensitive to frontal lobe dysfunction. *Psychopharmacology*, 107:393-404.

Lindvall, O., Bjorklund, A., Moore, R.Y. and U. Stenevi. 1974. Mesencephalic dopamine neurons projecting to neocortex. *Brain Res.* 81:325-331.

Lindvall, O. and Bjorklund, A., 1984. *Monoamine Innervation of Cerebral Cortex.* 9-40, Alan Liss. New York.

Lindvall, O., Bjorklund, A. and Divac, I. 1978. Organization of catecholamine neurons projecting to the frontal cortex in the rat. *Brain Res.* 142:1-24.

López-García, J.C., Fernández-Ruiz, J., Bermúdez-Rattoni, F. and Tapia, R. 1990. Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. *Brain Res.* 523:105-110.

Low, W.C., Lewis, P.R., Bunch, S.T., Dunnett, S.B., Thomas, S.R., Iversen, S.D., Bjorklund, A. and Stenevi, U. 1982. Functional recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. *Nature* 300:260-262

Madrado, I., Drucker-Colín, R., Díaz, V., Martínez-Mata, J., Torres, C., Becerril, J.J. 1987. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 2:831-834.

Mahalik, T.J., Finger, T.E., Stromberg, I. and Olson, L. 1985. Substantia nigra transplants into denervated striatum of the rat: Ultrastructure of graft and host connections. *J. Comp. Neurol.* 240:60-70.

Manier, M., Abrous, D.N., Feuerstein, C., Le Moal, M. and Herman, J. P. 1991. Lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathway in adult rats and reversal following the implantation of embryonic dopaminergic neurons: a quantitative immunohistochemical analysis. *Neuroscience.* 42:427-439.

Massman, P.J., Delis, D.C., Butters, N., Levin, B.E. and Salmon, D.P. 1990. Are all subcortical dementias alike? Verbal learning and memory in Parkinson's and Huntington's disease patients. *J. Clin.*

- Exp. Neuropsychol. 12:729-744.
- Milner, B. 1963. Effects of different brain lesions on card sorting: the role of the frontal lobes. Arch. Neurol. 9:90-100.
- Milner, B. and Petrides, M. 1984. Behavioural effects of frontal lobe lesions in man. TINS; 7:403-407.
- Mohr, E., Juncos, J., Cox, C., Litvan, I., Fedio, P. and Chase, T.N. Selective deficits in cognition and memory in high-functioning parkinsonian patients. 1990. J. Neurol. Neurosurg Psychiatry. 53:603-606.
- Moore, R.Y. 1978. Catecholamin innervation of the basal forebrain. I. The septal area. J.Comp. Neurol. 177:665-684.
- Moore, R.Y. and F.E. Bloom. 1978. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. Ann. Rev. Neurosci. 1:129-169.
- Mudrick, L.A. and Baimbridge, K.G. 1991. Hippocampal neurons transplanted into ischemically lesioned hippocampus: anatomical assessment of survival, maturation and integration. Exp.Brain. Res. 86:233-247.
- Murofushi, T., Mizuno, M., Osanai, R. and Hayashida, R. 1991. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. J.Otorhinolaryngol. Relat. Spec. 1991; 53(3):143-146.
- Narabayashi, H. 1977. Stereotaxic amygdectomy for epileptic hyperactivity -long range results in children. In Blaw ME, Rapin I, Kinsbourne M (eds): "Topics in Child Neurology". NY. Spectrum Publications, pp 319-331.
- Nijima, K., Araki, M., Ogawa, M., Nagatsu, I., Sato, F., Kimura, H. and Yoshida, M. 1990. Enhanced survival of cultured dopamine neurons by treatment with soluble extracts from chemically deafferented striatum of adult rat brain. Brain Res. 528:151-154.
- Palmerino, C.C., Rusiniak, K.W. and Garcia, J. 1980. Flavor-illness aversions: The peculiar roles of odor and taste in memory for poison. Science, 208:753-755.
- Pallage, V., Orenstein, D. and Will, B. 1992. Nerve growth factor and septal grafts: a study of behavioral recovery following partial damage to the septum in rats. Behav. Brain. Res. 47:1-12
- Paredes, R., Piña, A.L., Fernández-Ruiz, J. and Bermúdez-Rattoni, F. 1989. Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic area lesioned rats. 523:328-331.
- Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Seiger, A., Olson, L., and Wyatt, R.J. 1979. Brain grafts reduce motor abnormalities produced

by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science; 204:643-647.

Pribram; K.H. and Kruger, L. 1955. Functions of the "olfactory brain". Ann NY Acad Sci. 32:109-139.

Price, D.L. 1986. New perspectives on Alzheimer's disease. Ann. Rev. Neurosci. 9:489-512

Phillis, J.N. and Kostopoulos G.K. 1977. Activation of a noradrenergic pathway from the brain stem to rat cerebral cortex. Gen. Pharmacol. 8:207-211.

Ridley, R.M., Thornley, H.D., Baker, H.F. and Fine, A. 1991. Cholinergic neural transplants into hippocampus restore learning ability in monkeys with fornix transections. Exp. Brain Res. 83:533-538.

Ridley, R.M., Gribble, S., Clark, B., Baker, H.F. and Fine, A. 1992. Restoration of learning ability in fornix-transected monkeys after fetal basal forebrain but not fetal hippocampal tissue transplantation. Neuroscience. 48:779-792.

Ritter, S., McGlone, J.J. and Kelley, K. W. 1980. Absence of lithium-induced taste aversion after area postrema lesion. Brain Res. 201:501-506.

Rusiniak, K.W., Hankins, W.G. Garcia, J. and Brett, L. P. 1979. Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste in rats. Behav. Neural Biol. 25:1-17.

Santucci, A.C., Kanof, P.D. and Haroutunian, V. 1991. Fetal transplant-induced restoration of spatial memory in rats with lesions of the nucleus basalis of Meynert. J. Neural. Transplant. Plast. 2:65-74

Savasta, M., Mennicken, F., Chritin, M., Abrous, D.N., Feuerstein, C., Le Moal, M. and Herman, J.P. 1992. Intra-striatal dopamine-rich implants reverse the changes in dopamine d2 receptor densities caused by 6-hydroxydopamine lesion of the nigrostriatal pathway in rats: an autoradiographic study. Neuroscience. 46:729-738.

Sawaguchy, T. and Goldman-Rakic, P. 1991. D1 Dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. Science. 251:947-950.

Scalia, F. and Winans, S.S. 1975. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. J. Comp. Neurol. 161:31-56.

Scatton, B., D'Angio, M., Driscoll, P. and Serrano, A. 1988. An in vivo voltammetric study of the response of mesocortical and mesoaccumbens dopaminergic neurons to environmental stimuli in strains of rats with differing levels of emotionality. Ann N.Y.

Acad. Sci. 537:124-137

Scatton, B., Javoy-Agid, F., Montfort, J.C. and Agid, Y. 1984. Neurochemistry of monoaminergic neurons in Parkinson's disease. In: Usdin, E., Carlsson, A., Dahlstrom, A. and Engel, J. eds. Catecholamines: Neuropharmacology and Central Nervous System. Therapeutic Aspects. New York: A. Liss. 1984. pp 43-52.

Serby, M., Corwin, J., Movatt, A., Conrad, P., Rotrosen, J. 1985. Olfaction in dementia. J. Neurol Neurosurg. Psychiat. 48:848-849

Simon, H., Scatton, B. and Le Moal, M. 1979. Definitive disruption of spatial delayed alternation in rats after lesions in the ventral mesencephalic tegmentum. Neurosci. Lett. 15:319-324

Simon, H., Scatton, B. and Le Moal, M. 1980. Dopaminergic A10 neurons are involved in cognitive functions. Nature 286:150-151.

Simon, H., Taghzouti, K. and Le Moal, M. 1986. Deficits in spatial memory tasks following lesions of septal dopaminergic terminals in the rat. Behav. Brain Res. 19:7-16.

Sinden, J.D., Allen, Y.S., Rawlins, J.N. and Gray, J.A. 1990. The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus basalis and cholinergic-rich neural transplants on win-stay/lose-shift and win-shift/lose-stay performance in the rat. Behav. Brain Res. 36:229-249.

Slotnick, B.M. and Kaneko, N. 1981. Role of mediodorsal thalamic nucleus in olfactory discrimination learning in rats. Science. 214:91-92.

Smith, G. 1988. Animal models of Alzheimer disease: experimental cholinergic denervation. Brain Res. Rev. 13:103-118.

Sprick U. and Sprick, C. 1991. Subcutaneous injection of carbachol enhances brain graft-induced recovery of memory function by circumventing the blood brain barrier. Behav. Brain Res. 43:175-183

- Squire, L. 1986. Memory and Brain. Oxford University Press.
- Staubli, U., Schottler, F. and Nejat-Bina, D. 1987. Role of dorsomedial thalamic nucleus and piriform cortex in processing olfactory information. Behav. Brain Res. 1987; 25:117-129.
- Stromberg, I., Van Horne, C., Bygdeman, M., Weiner, N. and Gerhardt, G.A. 1991. Function of intraventricular human mesencephalic xenografts in immunosuppressed rats: an electrophysiological and neurochemical analysis. Exp. Neurol. 112:140-152.
- Sullivan E.V. and Sagar, H.J. Double dissociation of short-term and long-term memory for nonverbal material in Parkinson's disease and global amnesia. A further analysis. Brain. 1991. 114:893-906.
- Swann, H.G. 1934. The function of the brain in olfaction I. J. Compar. Neurophysiol. 59:175-201.
- Swann, H.G. 1935. The function of the brain in olfaction II. Am J. Physiol. 111:257-262.
- Swanson, L.W. 1982. The projection of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. Brain Res. Bull. 9:321-353.
- Takashima, H., Poltorak, M., Becker, J.B. and Freed, W.J. 1992 Effects of adrenal medulla grafts on plasma catecholamines and rotational behavior. Exp. Neurol. 118(24-34).
- Tandon, P., McLamb, R.L., Novicki, D., Shuey, D.L. and Tilson, H.A. 1988. Fetal hippocampal cell suspensions ameliorate behavioral effects of intradentate colchicine in the rat. Brain Res. 473:241-248
- Tarricone, B.J., Keim, S.R., Simon, J.R. and Low, W.C. 1991. Intrahippocampal transplants of septal cholinergic neurons: high-affinity choline uptake and spatial memory function. Brain Res. 548:55-62.
- Taylor, A.E., Saint-Cyr, J.A. and Lang, A.E. 1986. Frontal lobe dysfunction in Parkinson's disease. Brain. 109:845-883.
- Taylor, A.E., Saint-Cyr, J.A. and Lang, A.E. 1990. Memory and learning in early Parkinson's disease: evidence for a "frontal lobe syndrome". Brain. Cogn. 13:211-232.
- Thierry, A.M., Blanc, G., Sobel, A., Stinus, L. and Glowinski, J. 1973. Dopaminergic terminals in the rat cortex. Science 182:499-501.
- Thierry, A.M., Mantz, J., Milla, C. and Glowinski, J. 1988. Heterologous regulation of receptors on target cells of dopamine

neurons in the prefrontal cortex, nucleus accumbens and striatum. Ann. N.Y. Acad. Sci. 537:112-123.

Tuszynski, M.H., U H.S., Amaral, D.G. and Gage, F.H. 1990. Nerve growth factor infusion in the primate brain reduces lesion-induced cholinergic neuronal degeneration. J. Neurosci. 10:3604-3614.

Ungerstedt, U. 1971. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. Acta Physiol. Scand. (suppl.) 367:1-48

Veening, J.G. 1978. Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat, an HRP study. Neurosci. Lett. 8:191-195.

Vilert Barnet, J., Jarne Esparcia, A. y Aguilar Barbera, M. 1991. Cognitive deterioration in Parkinson's disease. Arch.Neurobiol. (Madrid). 54:311-317.

Vriezen, E.R. and Moscovitch, M. 1990. Memory for temporal order and conditional associative-learning in patients with Parkinson's disease. Neuropsychologia. 28:1283-1293.

Vu, K., Introini-Collison, I.B. and McGaugh, J.L. 1989. Differential effects of pretraining and postraining intra-amygdala administration of apomorphine on learning and memory. Soc. Neurosci. Abstr. 15:467.

Ward, C.D., Hess, W.A. and Calne, D.B. 1983. Olfactory impairment in Parkinson's disease. Neurology. 33:943-946.

Weldon, D.A., Travis, M.L. & Kennedy, D.A. 1991. Postraining D-1 receptor blockade impairs odor conditioning in neonatal rats. Behav. Neurosci. 105, 450-458.

Welner, S.A., Koty, Z.C. and Boksa, P. 1990. Chromaffin cell grafts to rat cerebral cortex reverse lesion-induced memory deficits. Brain Res. 527:163-166.

White, N.M. and Viaud, M. 1991. Localized intracaudate dopamine D2 receptor activation during the post-training period improves memory for visual olfactory conditioned emotional responses in rats. Behav. and Neural Biol. 55:255-269.

Woodruff, M.L., Baisden, R.H. and Nonneman, A.J. 1992. Effects of transplantation of fetal hippocampal or hindbrain tissue into the brains of adult rats with hippocampal lesion on water maze acquisition. Behav. Neurosci. 106:39-50.

Woodruff, M.L., Baisden, R.H., Wittington, D.L. and Bensov, A.E. 1987. Embryonic hippocampal grafts ameliorate the deficit in DRL acquisition produced by hippocampectomy. Brain Res. 408:97-117

Zola-Morgan, S., Squire, L.R. and Amaral, D.G. 1989. Lesions of the amygdala that spare adjacent cortical regions do not impair memory or exacerbate the impairment following lesions of the hippocampal formation. J. Neurosci, 9:1922-1936

Zornetzen, S.F., Thompson, R. and Rogers, J. 1982. Rapid forgetting of aged rats. *Behav. Neural Biol.* 36:49-60

Zucco, GM., Zaglis, D., Wambsganss CS. 1991. Olfactory deficits in elderly subjects and Parkinson patients. *Percept. Mot. Skills.* 73:895-898.