



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MEXICO

03062  
21  
2 y

**EL SOBREENFRENAMIENTO Y EL  
TRANSPLANTE DE TEJIDO CEREBRAL  
FETAL COMO DOS FACTORES QUE  
MEDIAN LA RECUPERACION DE LA  
RESPUESTA DE AVERSION EN RATAS  
CON LESION EN LA AMIGDALA**

**T E S I S**

**Que para obtener el Grado de:  
MAESTRIA EN INVESTIGACION  
BIOMEDICA BASICA  
PRESENTA  
MARCO ANTONIO SANCHEZ RAMOS**

**MEXICO D. F.**

**1990**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## INDICE

<b>I</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	1
	1.1 EL MODELO UTILIZADO.....	1
	1.2 LA AMIGDALA.....	6
<b>II</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	21
<b>III</b>	<b>METODO GENERAL</b> .....	22
	3.1 ANIMALES.....	22
	3.2 CIRUGIA.....	22
	3.3 TRANSPLANTE.....	24
	3.4 PREVENCION PASIVA.....	24
	3.5 PRUEBA DE SENSIBILIDAD.....	27
	3.6 HISTOLOGIA.....	29
	3.7 ESTADISTICA.....	30
<b>IV</b>	<b>RESULTADOS EXPERIMENTALES</b> .....	30
	4.1 EXPERIMENTO 1.....	30
	4.2 EXPERIMENTO 2.....	35
	4.3 EXPERIMENTO 3.....	37
	4.4 EXPERIMENTO 4.....	39
	4.5 EXPERIMENTO 5.....	41
	4.6 EXPERIMENTO 6.....	44
	4.7 RESULTADOS HISTOLOGICOS.....	46
<b>V</b>	<b>DISCUSION</b> .....	47
<b>VI</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	66
<b>APENDICE</b>		
ARTICULO	1.- ANTECEDENTE DEL MODELO UTILIZADO: LEARNING OF EXTERNAL AND VISCERAL CUE CONSEQUENCES MAY BE SUBSERVED BY DIFFERENT NEUROANATOMICAL SUBSTRATES.	
ARTICULO	2.- ANTECEDENTE DEL TRANSPLANTE EN LA AMIGDALA: FETAL BRAIN TRANSPLANTS INDUCE RECUPERATION OF TASTE AVERSION LEARNING.	
ARTICULO	3.- DISCUSION SOBRE LOS MECANISMOS ENDOCRINOS RELACIONADOS CON EL APRENDIZAJE: EL EJE PITUITARIO-ADRENAL Y LOS PROCESOS COGNOSCITIVOS.	

# I ANTECEDENTES

## I.1 EL MODELO UTILIZADO

Para dar una respuesta adecuada ante los estímulos ambientales, los animales deben poseer mecanismos eficientes que les permitan percibir e integrar la información sobre las cualidades del alimento o de los efectos nocivos que ofrece un determinado ambiente o el contacto con un depredador.

Esta información puede ser procesada por dos diferentes caminos: por el sistema de regulación externa o sistema cognoscitivo y por el sistema de regulación interna o sistema afectivo. Estos dos sistemas presentan diferencias en cuanto al valor de los estímulos y al tiempo necesario para asociarlos en el espacio (García et al., 1985).

En el sistema externo, existen estímulos que tienen un valor intrínseco, como es el caso del alimento como reforzador en un condicionamiento operante o como un estímulo incondicionado en un condicionamiento pavloviano; en los dos casos el alimento provoca per se un cambio en el animal, ya sea conductual o fisiológico. Otro ejemplo de un estímulo con un determinado valor es el choque eléctrico que se utiliza como reforzador negativo en condicionamientos operantes, o como estímulo incondicionado en paradigmas pavlovianos; en ambos casos este estímulo provoca una respuesta de aversión. El tiempo requerido para hacer la asociación se puede medir en segundos o en fracciones de segundo.

En el sistema interno, por otro lado, el animal le da un valor a un determinado estímulo dependiendo del cambio en el medio interno, por ejemplo, tendrá más valor un alimento nutritivo con respecto al que no lo es o que presenta cierta toxicidad; el animal aumentará o evitará el consumo dependiendo de las repercusiones internas. El intervalo entre la ingestión del

alimento y las consecuencias en el medio interno es medida en horas o fracciones de hora (figura 1).

Además de las diferencias en cuanto al valor y al tiempo requerido para la asociación de los estímulos que presentan estos dos sistemas, Garcia y Garcia y Robertson (1984) han propuesto que la evolución de estos dos mecanismos de aprendizaje y las estructuras involucradas en cada uno de ellos son distintas.

Entre muchas evidencias que se tienen, se sabe que las vías auditivas y somatosensoriales se unen en la corteza y se dirigen al sistema límbico (Herrick, 1948, citado en Garcia et al., 1985); en tanto que las vías gustativas y viscerales llegan al núcleo del tracto solitario pasan por el núcleo parabraquial del puente y, posteriormente, llegan al núcleo ventro-posteromedial del tálamo, para finalizar en la corteza gustativa (Kiefer, 1985).

Las diferencias que presentan los dos sistemas con respecto a las vías utilizadas, ha dado como consecuencia que no se pueda o se dificulte la integración de estímulos del sistema externo con los del interno, esto es, no es posible asociar estímulos como el tacto o el sonido con una irritación gástrica; ni tampoco un determinado gusto con un choque eléctrico. En estas condiciones el animal no puede aprender que existe una asociación en el espacio y en el tiempo entre un sonido y un malestar gástrico; ni tampoco puede darle un valor determinado al gusto puesto que la información para el cambio del medio interno que ocasiona el choque eléctrico no viaja por las mismas vías neuronales y, por lo tanto no puede ser integrada con el estímulo gustativo.

En los roedores, el olor es un estímulo que puede ser integrado en los dos sistemas dependiendo de la forma en que se presente. Si es seguido de un choque eléctrico, el olor fácilmente provoca respuestas de aversión. En cambio, para ser integrado en el sistema interno, el olor debe estar pareado con un estímulo para que pueda

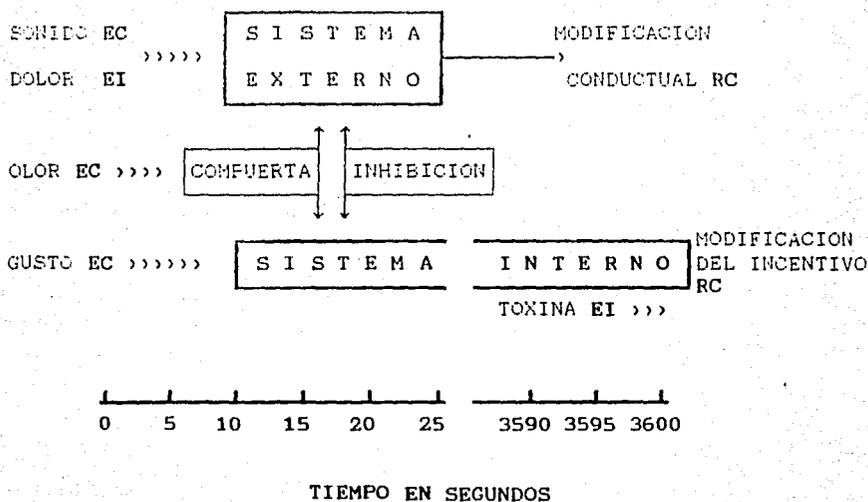


Figura 1.- Modelo de los sistemas externo, interno y potenciación. EC=Estimulo Condicionado; EI=Estimulo Incondicionado; RC=Respuesta Condicionada (Tomado de Garcia et al., 1985).

ser asociado con la irritación gástrica; a este fenómeno se le ha denominado potenciación sinérgica del olor por el gusto (Rusiniak et al., 1979) (figura 1).

Aunque se han hecho pocos estudios para agrupar a las estructuras cerebrales involucradas en uno u otro sistema de integración, se tienen datos interesantes para hacerlo con tres paradigmas conductuales muy utilizados en el laboratorio y que son representativos del sistema de integración externa, del sistema de integración interna y de la potenciación: la prevención pasiva (PP), el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) y la potenciación del olor por el gusto (figura 1).

En el primer paradigma, en el cual el animal aprende a quedarse quieto para evitar un estímulo nocivo, usualmente un choque eléctrico, se han podido identificar a tres estructuras relacionadas, el núcleo caudado (Glick y Greenstein, 1973), el hipocampo dorsal (Isaacson y Kimble, 1972) y la amígdala (McIntyre y Stein, 1973). En el condicionamiento aversivo a los sabores, en el cual el animal le da un valor negativo a un gusto si éste es seguido de una irritación gástrica, se ha podido relacionar a la corteza gustativa (Braun et al., 1972) y a la amígdala (McGowan et al., 1972). Por último, en la potenciación del olor por el gusto se ha asociado al hipocampo (Bermúdez-Rattoni et al., 1985) y a la amígdala (Bermúdez-Rattoni et al., 1986) (figura 2).

Con la información que tenemos a la fecha podemos apoyar la idea de que los dos sistemas de integración propuestos por Garcia y sus colaboradores presentan sustratos anatómicos y comunicaciones neurales separadas. Entre las estructuras que se sabe que están involucradas se tomó a la amígdala como modelo de estudio de la recuperación de la función debido a la participación que tiene en los tres paradigmas conductuales mencionados anteriormente.

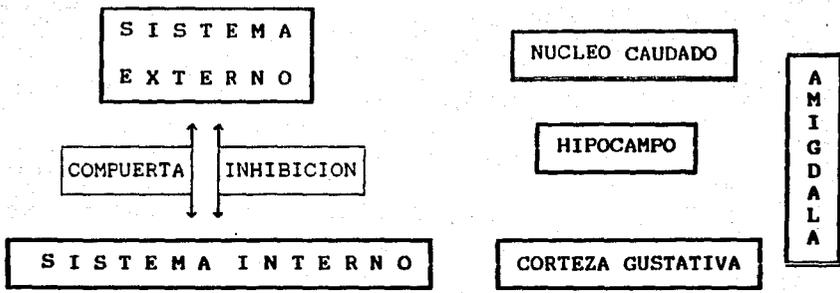


Figura 2.- Estructuras involucradas en los tres sistemas.

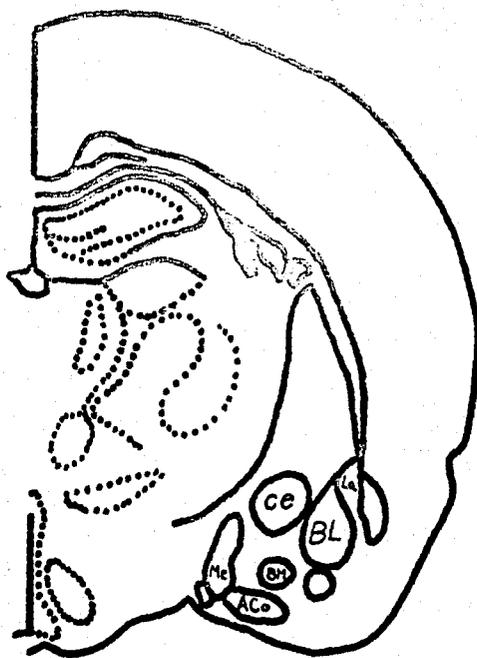
## 1.2 LA AMIGDALA.

La amígdala (del latín: amígdala-almendra) es un conjunto de agrupaciones celulares que se localiza en la parte ventral del lóbulo temporal en los mamíferos; está parcialmente cubierta por la corteza periamigdalóide del giro hipocámpal e inmediatamente adyacente al hipocampo; forma el ápice y las paredes rostromedial y rostródorsal del asta inferior del ventrículo lateral (figura 3).

En 1923 Johnson (citado por Richardson, 1973) hizo una valiosa contribución para el estudio de esta estructura, proponiendo dos grandes grupos: un grupo filogenéticamente antiguo que comprendía a los núcleos medial, central y cortical; y un grupo filogenéticamente reciente que comprendía a los núcleos basal y lateral. El primer grupo se fue reduciendo a lo largo de la evolución, mientras que el segundo ocupó una porción importante de la amígdala, además de establecer gran cantidad de conexiones con áreas corticales. De acuerdo a las conexiones que presenta el núcleo basolateral con estructuras corticales y subcorticales se ha postulado que este núcleo pueda ser, en términos funcionales, una estructura parecida a la corteza cerebral (Carlsen y Heimer, 1988).

Aunque en un principio, la división hecha por Johnson cubrió adecuadamente las exigencias en los estudios electrofisiológicos y conductuales, posteriormente fue necesario entender las relaciones funcionales y contribuciones conductuales de cada una de las diversas áreas y subáreas que conforman esta compleja estructura que llamamos, globalmente, amígdala.

En 1985, Olmos et al. hicieron una revisión extensiva de la amígdala y con base en los estudios bioquímicos y de conexiones



Bregma - 2.3 mm

Figura 3.- Esquema de los principales núcleos amigdalinos (modificación del atlas estereotaxico de Paxinos y Watson, 1982). Me=Medial; Ce=Central; BL=Basolateral; La=Lateral; ACo=Cortical.

propusieron 4 diferentes grupos para subdividirla: 1) la amígdala olfativa; 2) la amígdala medial; 3) la amígdala basolateral; y 4) la amígdala central (tablas 1-9)

1) En la amígdala olfativa están incluidos el Área amigdalina anterior (AA); el núcleo del tracto olfatorio lateral (TOL); el extremo rostral del núcleo amigdalino medial (NAM); la parte anterior y posterior del núcleo amigdalino cortical (ACO y PCO) y el Área de transición amigdalopiriforme (APir).

2) El grupo amigdalino medial incluye a la amígdala medial (AM); la porción posteromedial e intermedia de la sustancia innominata sublenticular (SIS); y la división medial e intermedia del núcleo basal de la estria terminal (BNST). El grupo amigdalino medial también incorpora a la amígdala vomeronasal, (AV), aquella porción de la amígdala relacionada con el sistema olfatorio. Sobre la base de la conectividad, el núcleo cortical (Co), el Área de transición amigdalohipocámpal (AH) y el núcleo basomedial (BM) pueden incluirse dentro de este grupo.

3) El grupo basolateral incluye a los núcleos lateral (La), basolateral (BL) así como los elementos del núcleo basomedial (BM).

4) La amígdala central incluye al núcleo central (Ce) y a los porción dorsolateral de la sustancia innominata sublenticular (SIS); y a la división lateral y ventral del núcleo basal de la estria terminal (BNST). Parte del núcleo basomedial (BM) puede estar incluido dentro de este grupo.

Con estudios de lesión, inyección intracerebral de sustancias o estimulación eléctrica, se ha podido involucrar a la amígdala (sin determinar un núcleo en particular) en diversos eventos fisiológicos, entre los que se encuentran las funciones olfativas y viscerales (Richardson, 1973); funciones reproductivas (Ionberg, 1968); fisiología de la respuesta al estrés promoviendo la estimulación del eje pituitario-adrenal (Beaulieu et al., 1986);

fisiología del sueño etc. (Kaada, 1972) (tabla 10).

Debido a la complejidad que presenta la amígdala, se han realizado relativamente pocos trabajos en donde se relacione la actividad eléctrica y la neuroquímica de cada núcleo con las diversas conductas en las que se sabe que interviene globalmente la amígdala. Sin embargo, existe en la literatura una interesante revisión de Sarter y Markowitch (1986) en donde se hace incapié en la necesidad de trabajar más sobre la relación estructura-función de cada núcleo de la amígdala.

En las siguientes tablas se resumirán los resultados que se tienen sobre las conexiones (tablas 1-9), las funciones (tabla 10) y la neuroquímica (tabla 11) que han sido asociadas a cada núcleo. En cada una de ellas se pondrán las fuentes de donde fueron obtenidas.

TABLA 1.- CONEXIONES AFERENTES DE LA AMIGDALA OLFATIVA.

	AA	TOL	NAM	CO	PCO	APir
<b>BULBO OLFATORIO</b>	x	x	x	x	x	x
<b>CORTEZA</b> -ENTORRINAL	x	x	x	x	x	x
-INSULAR				x	x	
<b>TELENCEFALO</b> -HIPOCAMPO					x	x
-N.DE LA BANDA DIAGONAL	x	x	x	x	x	x
-N.ENDOPIRIFORME					x	x
<b>DIENCEFALO</b> -A.PREOPTICA	x					
<b>HIPOTALAMO</b> -VENTROMEDIAL	x					
-MEDIAL	x					
-ANTERIOR	x					
-PARAVENTRICULAR	x					
-ARCUATO	x					
-LATERAL				x	x	
-PERIPEDUNCULAR				x	x	
<b>TALAMO</b>				x	x	
<b>TALLO CEREBRAL</b> -L.COERULEUS	x	x	x	x	x	
-A.TEGMENTAL V	x		x	x	x	x
-N.RAFE	x	x	x	x	x	x
-PARABRAQUIAL	x					

Tabla 2.- Conexiones eferentes de la amígdala olfativa.

	AA	TOL	NAM	CO	PCO	APir
<b>BULBO OLFATORIO</b>	x	x			x	
<b>CORTEZA</b> -OLFATORIA	x	x	x	x	x	x
-ENTORRINAL	x		x	x	x	x
-INSULAR				x	x	x
<b>TELENCEFALO</b> -HIPOCAMPO					x	x
-N. OLFATORIO ANT				x	x	x
-ESTRIADO VENTR	x	x	x	x	x	x
-TUBERCULO OLFAT	x	x	x	x	x	x
-N. ACUMBENS					x	x
-A. SEPTAL				x	x	x
-N. ENDOPIRIFORME	x					
<b>DIENCEFALO</b> -A. PREOPTICA						
<b>HIPOTALAMO</b> -VMH		x				
<b>TALAMO</b>	x			x		
<b>TALLO CEREBRAL</b>						

Tabla 3.- Conexiones aferentes de la amígdala medial.

	AA	SIS	BNST	AV	CO	AH	BM
<b>BULBO OLFATORIO</b>	x						
<b>CORTEZA</b>	x						
-INSULAR					x		
-RETROSPENIAL							
-ENTORRINAL					x		x
-HIPOCAMPO	x		x		x		
-N. OLFATORIO	x				x		
-BANDA DIAGONAL	x	x			x		x
-N. ENDOPIRIFORME	x						
-FUNDUS STRIATI			x				
<b>DIENCEFALO</b>	x		x			x	x
-VMH							
<b>HIPOTALAMO</b>	x	x	x			x	
-PVN							
-A. PREOPTICA	x	x	x			x	
-ANTERIOR	x	x	x			x	
-A. PREMAMILAR			x				
-N. ARCUATO	x	x	x			x	
-LATERAL	x	x	x		x		
-PERIVENTRICULAR			x			x	
-DORSAL		x					
-DORSOMEDIAL			x				
-PARAVENTRICULAR	x		x				x
<b>TALAMO</b>	x						x
-PARATENIAL	x						x
-POSTEROLATERAL	x						
-POSTEROMEDIAL	x						
-ROMBOIDEO			x				
-PARAFASCICULAR			x				
-HABENULA			x				
<b>TALLO CEREBRAL</b>	x						
-S. NIGRA COMPAC	x	x	x		x		x
-N. DEL RAPE	x						
-N. PARABRAQUIAL	x						
-A. TEGMENTAL			x		x		x
-L. COERULEUS	x				x		
-N. TRACTO SOLIT		x					

Tabla 4.- Conexiones eferentes de la amígdala medial.

	AM	SIS	BNST	AV	CO	AH	BM
<b>TELENCEFALO -CAUDADO-PUTAMEN</b>							x
-N. ACUMBENS		x				x	x
-T. OLFATORIO							x
-A. SEPTAL			x				
<b>DIENCEFALO -VMH</b>	x		x		x	x	x
<b>HIPOTALAMO -N. PRMAMILAR</b>	x		x		x	x	x
-A. SUPRAMAMILAR			x				
-A. PREOPTICA	x		x			x	
-ANTERIOR			x				x
-PARAVENTRICULAR	x				x		x
-PVH	x		x				
-A. RETROQUIASMAT	x						
-N. SUPRAOPTICO	x		x				
-DORSOMEDIAL	x						
-N. ARCUATO	x		x				
-A. TUBERAL	x		x				
-EMINENCIA MEDIA			x				
-NEUROHIPOFISIS			x				
-PERIVENTRICULAR			x				
<b>TALAMO N. PARATENIAL</b>			x				
MEDIODORSAL	x						x
PERPENDICULAR	x		x				
<b>TALLO CEREBRAL -A. TEGMENTAL</b>	x		x				
-FORMACION RET		x	x				

Tabla 5.- Conexiones aferentes de la amígdala basolateral.

		La	BL	BM
CORTEZA	-OLFATORIA	x	x	x
	-ENTORRINAL	x	x	
	-INSULAR	x	x	x
	-INFRALIMBICA	x	x	
	-PERIRRINAL	x		
	-PRELIMBICA	x	x	x
	-CINGULO		x	
	-ORBITOFRONTAL		x	
	-PRECENTRAL		x	
	-HIPOCAMPO		x	
TELENCEFALO	-BANDA DIAGONAL	x	x	x
	-PALIDO VENTRAL	x	x	x
	-S. INNOMINATA	x	x	
	-N. ACUMBENS	x	x	
DIENCEFALO HIPOTALAMO	-VENTROMEDIAL	x		
	-DORSOMEDIAL	x		
	-N. PREMAMILAR	x		
	-A. SUPRAMAMILAR	x		
	-N. PERIFORNICAL	x		
	-LATERAL	x		
	-A. PREEPTICA	x	x	
	-N. PARATENIAL	x	x	x
	-N. PARAVENTRICUL	x	x	x
	-CENTRAL	x		
	-MEDIODORSAL		x	
	-POSTEROMEDIAL	x		
	-SUBPARAFASICULAR		x	
	-PERIPEDUNCULAR		x	
TALLO CEREBRAL	-A. TEGMENTAL		x	
	-N. RETRORUBRAL	x	x	
	-N. RAPE	x	x	x
	-S. GRIS PERIACUED		x	
	-N. TEGMENTAL PONT		x	
	-N. PARABRAQUIAL		x	
	-LOCUS COERULEUS	x	x	x

Tabla 6.- Conexiones eferentes de la amígdala basolateral.

		La	BL	BM
<b>CORTEZA</b>	-OLFATORIA		*	
	-ENTORRINAL	*	*	*
	-INSULAR	*	*	*
	-GUSTATIVA			
	-INFRALIMBICA	*	*	*
	-PERIRRINAL	*	*	
	-PRELIMBICA	*	*	*
	-CINGULO		*	
	-PRECENTRAL	*	*	
	-MOTORA		*	
	-SOMATOSENSORIAL		*	
<b>TELENCEFALO</b>	-HIPOCAMPO		*	
	-ESTRIADO	*	*	
<b>DIENCEFALO</b>	-LATERAL	*	*	*
	<u>HIPOTALAMO</u> -MEDIAL	*	*	*
<u>TALAMO</u>	-MEDIODORSAL		*	
<b>TALLO CEREBRAL</b>	-A. TEGMENTAL	*	*	

Tabla 7.- Conexiones aferentes de la amígdala central.

		Ce	SIS	BNST
CORTEZA	-PIRIFORME	*		
	-INSULAR	*		*
	-INFRALIMBICA	*	*	*
	-PERIRRINAL	*		*
	-PRELIMBICA	*		
	-ENTORRINAL	*	*	*
TELENCEFALO	-HIPOCAMPO	*		
	-BANDA DIAGONAL	*	*	*
	-N. ACUMBENS		*	*
DIENCEFALO	-LATERAL	*	*	*
	-VMH	*	*	*
HIPOTALAMO	-A. PREEPTICA	*	*	*
	-N. ARCUATO	*	*	*
TALAMO	-N. PREMAMILAR	*		
	-ANTERIOR		*	
	-PARAVENTRICULAR		*	
	-HABENULA	*		
	-N. PERIPEDUNCULAR	*		
	-N. PARABRAQUIAL	*		
TALLO CEREBRAL	-N. TRACTO SOLIT	*		
	-A. TEGMENTAL DORS	*	*	*
	-S. NIGRA COMPACTA	*	*	*
	-A. RETRORUBRAL	*	*	*
	-LOCUS COERULEUS	*	*	*
	-N. RAPE	*	*	*
	-S. GRIS PERIACUED	*		

Tabla 8.- Conexiones eferentes de la amígdala central.

		Ce	SIS	BNST
CORTEZA	-PERIRRINAL	*		
	-ESTRIADO	*		
TELENCEFALO	-FUNDUS STRIATI		*	
	-LATERAL	*	*	*
DIENCEFALO	-A. PREOPTICA	*	*	*
HIPOTALAMO	-N. PARAVENTRICULAR	*		*
	-N. VENTROMEDIAL	*		*
	-N. DORSOMEDIAL	*		*
	-VMH		*	
	-DORSAL	*		
	-POSTERIOR	*	*	
	-A. SUPRAMAMILAR		*	
TALAMO	-VENTROMEDIAL	*		
	-DORSOMEDIAL		*	
	-HABENULA		*	
	-DORSAL		*	
	-N. PARABRAQUIAL	*	*	*
TALLO CEREBRAL	-N. MOTOR DEL VAGO	*	*	*
	-N. TRACT SOLITARIO	*	*	*
	-N. AMBIGUO	*	*	*
	-N. CUNEIFORME		*	
	-LOCUS COERULEUS	*		*
	-S. NIGRA COMPACTA	*	*	*
	-A. TEGMENTAL VENT	*	*	*
	-S. GRIS PERIACUED	*	*	*
	-N. TEGMENTAL PONT	*	*	
	-N. RAPE			*

Tabla 9.- Conexiones intraamigdalinas.

	AA	TOL	NAM	ACO	PCO	APir	AM	SIS	BNST	AH	La	BL	BM	Ce	SIS	BNST
AA				*	*							*	*			
TOL		*					*		*			*	*			
NAM																
ACO	*	*	*	*	*			*			*	*				
PCO							*	*		*	*	*	*	*	*	*
APir	*	*		*	*		*		*	*	*	*	*			
AM				*							*			*		*
SIS				*												
BNST	*															*
AH																
La					*								*			
BL	*	*	*	*	*		*	*								
BM	*													*		*
Ce	*				*			*							*	*
SIS	*			*								*	*	*	*	*
BNST	*											*		*		*

Tabla 10- Funciones asociadas a diferentes nucleos de la amigdala.  
Las citas marcadas con \* se encuentran en Sarter y Markowitch, 1986.

	AMIGDALA OLFATIVA	AMIGDALA MEDIAL	AMIGDALA BASOLATERAL	AMIGDALA CENTRAL
FUNCION OLFATIVA	*	*		
SITUACION DE ESTRES				Beaulieu et al 1986
SECRECION GASTRICA				Henke 1986
CONDUCTA ALIMENTICIA		*	*	
RESPUESTA CARDIACA			*	
CONDUCTA SEXUAL		Lehman et al 1980		
CONDUCTA SOCIAL		Luiken et al 1985		
CONDUCTA AGRESIVA		Koolhoas et al 1980		
ACTIVIDAD LOCOMOTORA		*		*
APRENDIZAJE INSTRUMENTAL			*	
PP			*	*
CAS			*	
APRENDIZAJE EN LABERINTO	*	*	*	

Tabla 11.-Neuroquímica de la amígdala. ⊗ en somas; ▶ en terminales nerviosas (Sarter y Markowitch, 1986)

	AMIGDALA OLFATIVA	AMIGDALA MEDIAL	AMIGDALA BASOLATERAL	AMIGDALA CENTRAL
ACETILCOLINA		▶—	▶—	▶—
DOPAMINA			▶—	▶—
NORADRENALINA			▶—	
SEROTONINA	▶—	▶—	▶—	▶—
SOMATOSTATINA	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—
VIP	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—
ENCEFALINAS		⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—
SUSTANCIA P		⊗ ▶—	▶—	⊗ ▶—
CCK	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—	▶—
NEUROTENSINA	⊗	⊗ ▶—	⊗ ▶—	⊗ ▶—

## II OBJETIVO

En un reporte previo, Bermúdez-Rattoni et al., (1987) demostraron que las ratas con lesión en la amígdala podían recuperar el condicionamiento de aversión a los sabores con y sin la intervención del trasplante de tejido cerebral fetal. Con estos antecedentes y conociendo la participación de esta estructura en paradigmas conductuales pertenecientes a los dos sistemas de integración, según el modelo de Garcia et al. (1985), se pensó en la posibilidad de que la recuperación espontánea de la respuesta de aversión también se presentara en aprendizajes del sistema externo. De esta forma, el diseño de este trabajo se hizo con el fin de caracterizar el tipo de recuperación que presentan los animales con lesión en la amígdala sometidos a un paradigma de PP.

### III METODO GENERAL

#### III.1 ANIMALES

Se utilizaron ratas machos (*Ratus norvegicus*) variedad Wistar con un peso inicial de 280-320g, obtenidos del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Se mantuvieron en cajas de acrílico de 20 X 15 X 30 cm con agua y alimento ad libitum dentro de un cuarto sonoamortiguado con temperatura constante y con un ciclo luz-obscuridad 12-12.

#### III.2 CIRUGIA

Los animales experimentales que estuvieron sujetos a la lesión de la amígdala fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de anestésico (pentobarbital sódico) a una dosis de 45 mg/Kg de peso y colocados en un aparato estereotáxico como se ilustra en la figura 4. Se realizó un corte sagital en la piel del cráneo para poner al descubierto las suturas craneales. Tomando como referencia al punto bregma, que es la unión de las suturas fronto-parietal y sagital, fue localizado el área de interés utilizando las coordenadas dadas por Paxinos y Watson (1982): Anteroposterior -2.5mm; Lateral  $\pm$ 4.8mm; Ventral -7.7mm.

Después de haber hecho el trepano se introdujo un electrodo de metal fabricado con una aguja entomológica No. 00, barnizada con electrobases excepto en la punta (1mm); esta aguja se conectó a un estimulador de corriente directa. La lesión se produjo al inyectar corriente catódica de 1mA con una duración de 2 minutos.

En este trabajo solo se reportaron a los animales que tuvieron lesión bilateral que abarco, por lo menos, el núcleo central de la amígdala. Los animales con lesión unilateral o con lesiones bilaterales fuera del sitio de interés no se tomaron en

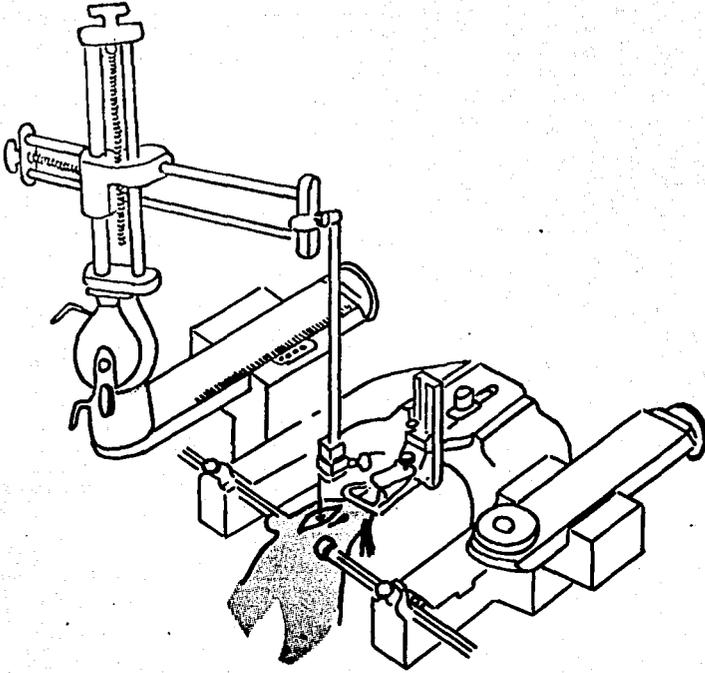


Figura 4.- Aparato estereotáxico.

cuenta para el análisis.

### III.3 TRANSPLANTE

Para el transplante de tejido cerebral se utilizaron los cerebros de fetos extraídos de hembras de 16-17 días de gestación. Para este efecto se anestesiaron a las hembras con anestésico con la dosis señalada previamente para practicarles una incisión de 2 cm en la zona abdominal. Al feto extraído de esta forma se le aisló el cerebro mediante una microdissección, éste se colocó en una caja de petri con solución salina a la temperatura ambiente y, con la ayuda de un microscopio de disección, se cortó y se separó la zona de la amígdala fetal. El bloque de tejido se succionó con una jeringa Hamilton de 100 $\mu$ l sujeta a una torre del aparato estereotáxico (figura 5).

Paralelamente se preparó al animal receptor previamente lesionado. Se siguió la misma metodología descrita en la sección de cirugía y cuando se localizaron las coordenadas se introdujo la jeringa Hamilton con el tejido cerebral fetal. El contenido de la jeringa se inyectó en un minuto.

### III.4 PREVENCIÓN PASIVA

Para este paradigma se utilizó una caja de acrílico de 17 X 15 X 40cm con dos compartimentos, uno iluminado y el otro oscuro, separados por una compuerta. En el lado oscuro se encontraron dos placas metálicas separadas por una distancia de 0.5cm y conectadas a un estimulador marca GRASS.

Durante la sesión de adquisición, en el cual se asocian los estímulos, se colocaron a los animales en el compartimento iluminado durante 45s (figura 6a). Al cabo de este tiempo, se abrió la compuerta y se les permitió el libre acceso al lado

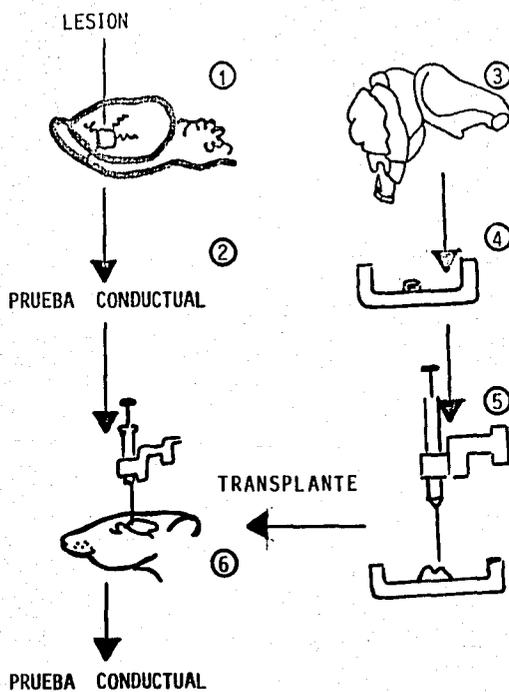


Figura 5.- Técnica del Transplante. De 3 a 6 esta representado la extracción, la succión y la inyección del transplante dentro del huésped.

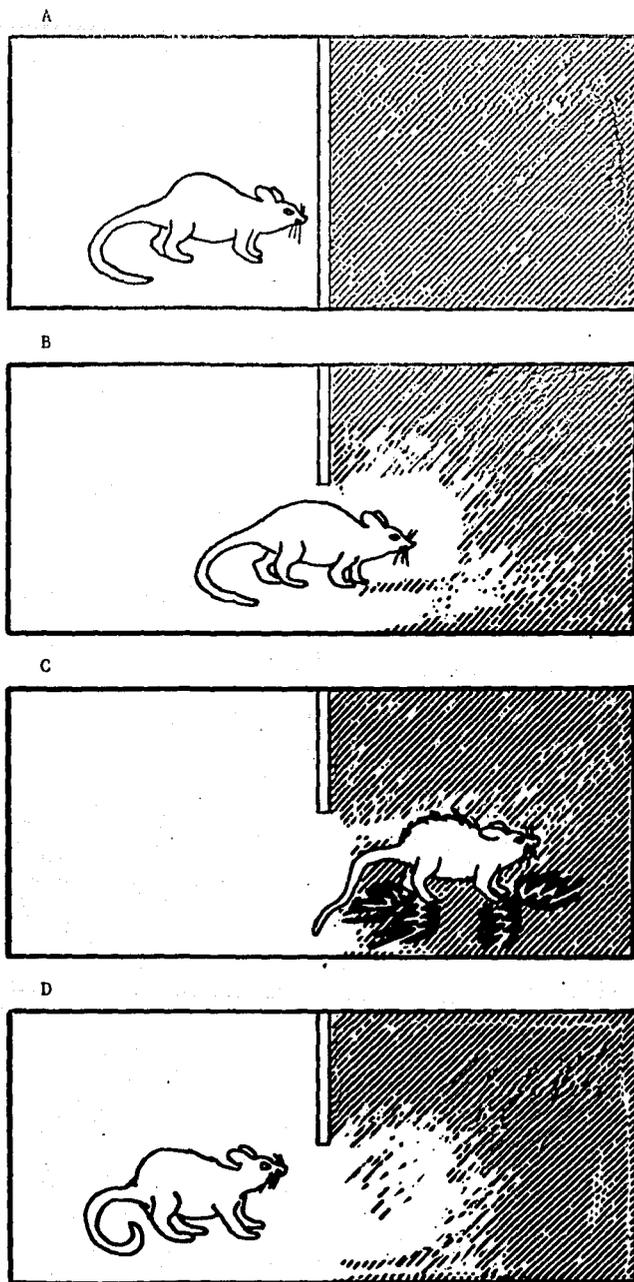


FIGURA 6.- PRUEBA DE PREVENCIÓN PASIVA

oscuro, contando el tiempo que ocuparon para este evento (latencia) (figura 6b). Una vez adentro, los animales recibieron un choque eléctrico en un tren de 13 pulsos/segundo a 0.7 mA de intensidad durante 3s (figura 6c). transcurrido este tiempo, se les retiró y se les colocó en su caja habitual.

Las sesiones de prueba fueron en días sucesivos, colocando a los animales en el lado iluminado de la caja durante 45s; al cabo de este tiempo, se abrió la compuerta y se midió la latencia de paso al lado oscuro (figura 6d). Los animales que no pasaron en 10 minutos se les retiró de la caja. Este procedimiento se siguió hasta que los animales controles disminuyeron su latencia a los valores basales.

Este procedimiento se efectuó nuevamente en aquellos animales sometidos a 2 adquisiciones, y el tiempo entre una y otra adquisición dependió de cada experimento.

Excepto para el experimento 1, no se reportan en este trabajo las pruebas de extinción aunque éstas se llevaron a cabo en todos los experimentos. Estas pruebas solo se realizaron para asegurar que el condicionamiento no interfiriera en las pruebas que siguieron a la segunda adquisición.

### III.5 PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Para medir la sensibilidad de los animales se utilizó la prueba de "Tail Flick" (movimiento de la cola) modificada (D'Amour y Smith, 1941). Se utilizó una caja de 32 X 20 X 20cm con un orificio de 1cm de diámetro en la parte superior. En el interior se colocó un foco de 120 volts a una distancia de 8cm que ocasionó en calentamiento de la cola. Encima de la caja se colocaron a los animales con la cola encima del orificio (figura 7 ). Se midió el tiempo desde el encendido de la lámpara hasta que los animales retiraron la cola (latencia).

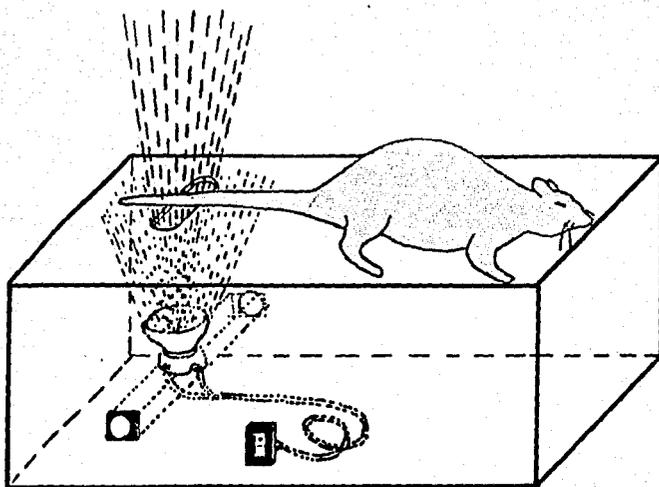


FIGURA 7.- PRUEBA DE LA SENSIBILIDAD

### III.6 HISTOLOGIA

Después de finalizar las pruebas conductuales se sacrificaron a los animales con una sobredosis de anestésico y posteriormente se perfundieron intracardiácamente con solución salina al 0.9% seguida de formol al 10% diluido en solución salina. Se extrajeron los cerebros y se mantuvieron durante 24 horas en la segunda solución de perfusión.

Se hicieron cortes de 40 $\mu$ m de grosor en el microtomo de congelación y se separaron en forma intercalada para teñirlos con violeta de cresilo y para hacer la reacción a la enzima acetilcolinesterasa.

#### Violeta de cresilo:

- 1) Se lavaron los cortes con agua destilada durante una noche.
- 2) Se preparó la solución de violeta de cresilo al 3% en agua destilada y se llevó a un pH de 3.3 con HCl.
- 3) Se sumergieron los cortes en la solución a 37°C durante 10 minutos.
- 4) Los cortes se lavaron en agua corriente durante 10 minutos.
- 5) Con el fin de fijar el colorante a los cortes, éstos se deshidrataron en los siguientes alcoholes: 35%, 50%, 75%, 80%, 95% y 100% durante 10 minutos en cada alcohol.
- 6) Posteriormente se pasaron a xilol para aclararlos.
- 7) Se montaron con Permaunt y se les colocó un cubreobjetos.

#### Acetilcolinesterasa:

- 1) Los cortes se incubaron en la siguiente solución durante una noche:
  - 100ml de solución stock (ver adelante)
  - 116mg de yoduro de S-Acetilcolina
  - 3mg de Etopropazina
- 2) Se revelaron en una solución de Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O al 1% en agua

destilada a pH 7.5 (la solución se llevó a este pH con ácido acético) durante 10 minutos.

3) Se montaron los cortes de la forma descrita anteriormente.

Solución Stock: 6.804g de acetato de sodio ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

0.9989g de sulfato cúprico ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )

1.201g de glicina ( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ )

en un litro de solución que se llevó a pH 5 con HCl.

### III.7 ESTADISTICA

La estadística que se ocupó en este trabajo fue la siguiente:

- 1) Para la comparación de dos grupos independientes, la U de Mann-Whitney
- 2) Para la comparación de 3 o más grupos independientes, el análisis de la varianza de Kruskal-Wallis
- 3) Se ocupó el análisis de la varianza con un criterio de clasificación con repeticiones para analizar el comportamiento de los individuos a lo largo de las pruebas de extinción.

## IV RESULTADOS EXPERIMENTALES

### IV.1 EXPERIMENTO 1

En un trabajo anterior, Bermúdez-Rattoni et al. (1987) sugirieron que la deficiencia en el CAS que presentan las ratas lesionadas en la amígdala puede ser disminuida mediante trasplante de tejido cerebral fetal. Sin embargo, en este mismo trabajo, los autores reportaron la recuperación espontánea de la conducta en este mismo condicionamiento en las ratas lesionadas en la amígdala que no fueron sometidas al trasplante.

Por este motivo se planeó un experimento que contemplara

estas dos formas de recuperación de la respuesta de aversión, utilizando a la prevención pasiva como un modelo de aprendizaje perteneciente al sistema exteroceptivo dentro del modelo propuesto por García et al. (1985).

Se formaron 3 grupos de ratas:

- 1) Animales lesionados en la amígdala una semana antes del condicionamiento, a quienes se les transplantó tejido cerebral fetal (T) una vez concluidas las pruebas de extinción (n=8)
- 2) Animales que se mantuvieron lesionados en la amígdala durante toda la prueba (L) (n=8).
- 3) Animales intactos (n=9).

### RESULTADOS

La figura 8 muestra el efecto de la lesión bilateral en la amígdala sobre la latencia de paso hacia la zona oscura de la caja de prevención. En la adquisición, tanto el grupo control como los grupos lesionados tuvieron la latencia baja, la cual no presentó diferencia significativa. Sin embargo, en el primer día de prueba (figura 9), los controles incrementaron significativamente su latencia ( $p < 0.02$  en la prueba de U de Mann-Whitney) con respecto a los dos grupos experimentales.

Durante las pruebas siguientes, el grupo control fue disminuyendo su latencia hasta llegar al valor que tuvieron en el día de la adquisición después de 7 días (figura 10). En contraste, los animales experimentales se mantuvieron sin variar significativamente su latencia durante todos los días de prueba. El análisis de la varianza con un criterio de clasificación con repeticiones muestra una diferencia significativa entre el grupo control y los lesionados ( $F(6,168)=3.63$   $p < 0.005$ ).

Un día después de extinguir la conducta de aversión en los animales controles, se sometió a los animales correspondiente al transplante de tejido cerebral fetal, de la manera descrita en la metodología.

# CURVA DE EXTINCION PRETRANSPLANTE

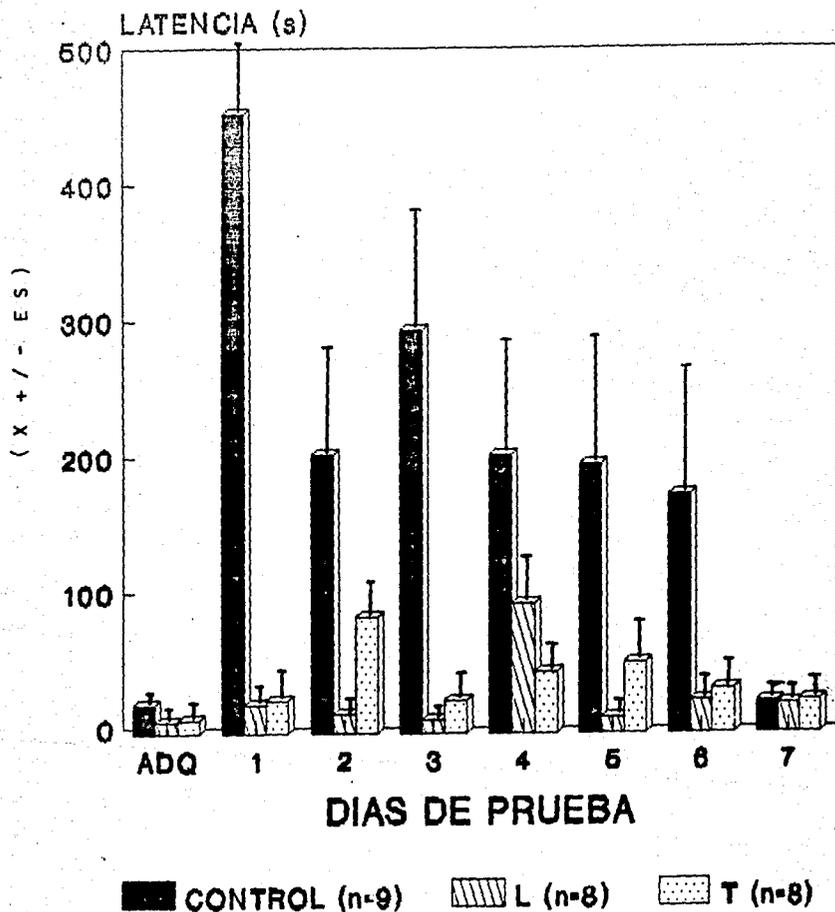


Figura 8.- Latencia mostrada durante la adquisición y las pruebas de retención en los animales lesionados.

# RECUPERACION DE LA RESPUESTA DE AVERSION

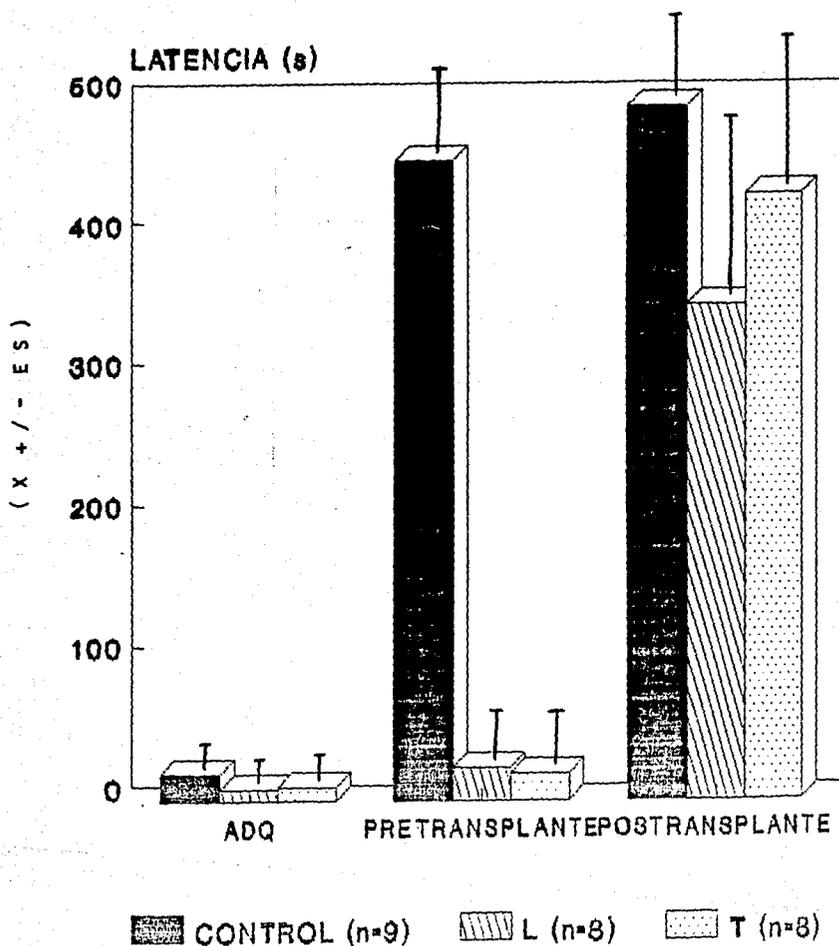


Figura 9.- Latencia durante la adquisición y los dos primeros días de la prueba de retención antes y después del trasplante

# CURVA DE EXTINCION POSTTRANSPLANTE

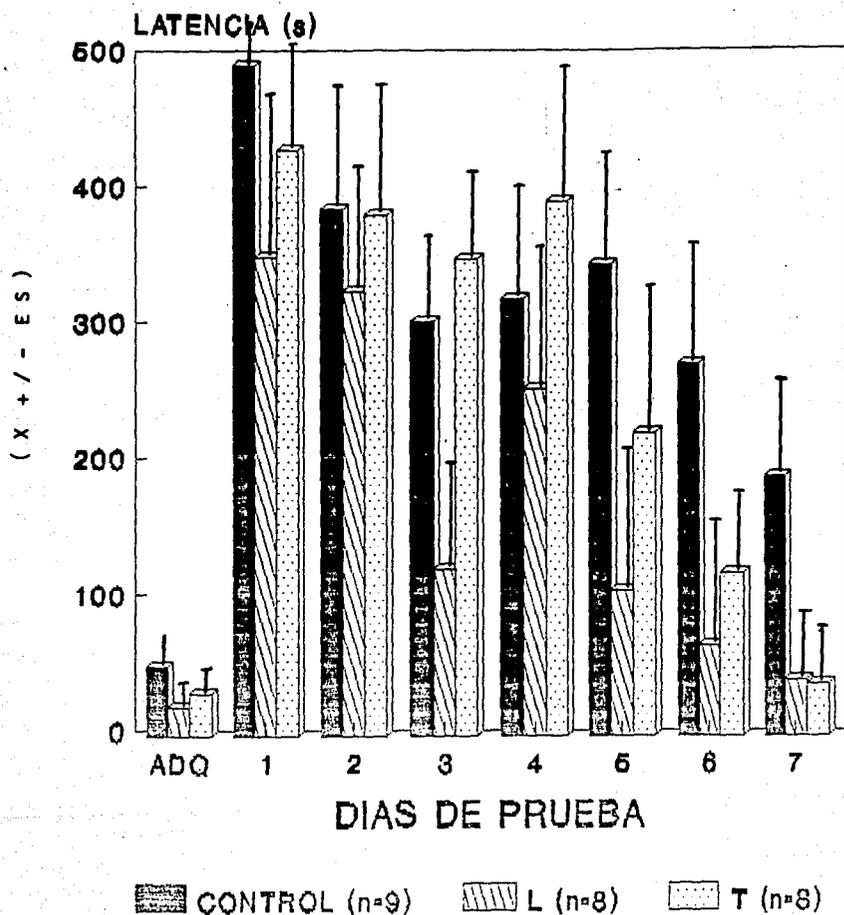


Figura 10.- Latencia mostrada durante la adquisición y las pruebas de retención en los animales lesionados con y sin transplante

Después de dos meses de haber realizado el trasplante, todos los animales fueron sometidos a una segunda adquisición en el paradigma de PP. Los resultados de esta fase del experimento se muestran en la figura 9, en donde se puede observar que durante la primera prueba, los tres grupos aumentaron su latencia sin presentar diferencias significativas entre ellos. Por otra parte, el análisis de la varianza de medidas repetidas no indicó diferencias significativas entre los grupos a lo largo de todas las pruebas (figura 10).

Con estos resultados se demostró que los animales con lesión en la amígdala pueden presentar recuperación de la respuesta de aversión, aparentemente sin la participación del trasplante. Estos datos apoyan, mediante otro paradigma, los resultados que obtuvieron Bermúdez-Rattoni et al. (1987) en el condicionamiento aversivo a los sabores.

#### IV.2 EXPERIMENTO 2

Con el experimento anterior se sugirió que la recuperación de la conducta de aversión en las ratas lesionadas en la amígdala se puede dar incluso sin trasplante. Sin embargo, se planteó la siguiente pregunta: La pérdida y la posterior recuperación de la conducta de evitación en las ratas lesionadas con o sin trasplante se debe a un efecto sobre el aprendizaje o un cambio en la sensibilidad de la rata?. Para contestar a esta pregunta se sometieron a 3 grupos de ratas a la prueba del "Tail Flick" para medir su sensibilidad:

- 1) Un grupo estuvo formado por ratas lesionadas 15 días antes de la prueba de sensibilidad (L1 n=6).
- 2) Otro grupo lo constituyeron animales lesionados 2 meses antes de la prueba (L2 n=12).
- 3) Dos grupos controles sin lesión (C1 n=6; C2 n=8).

# PRUEBA DE SENSIBILIDAD

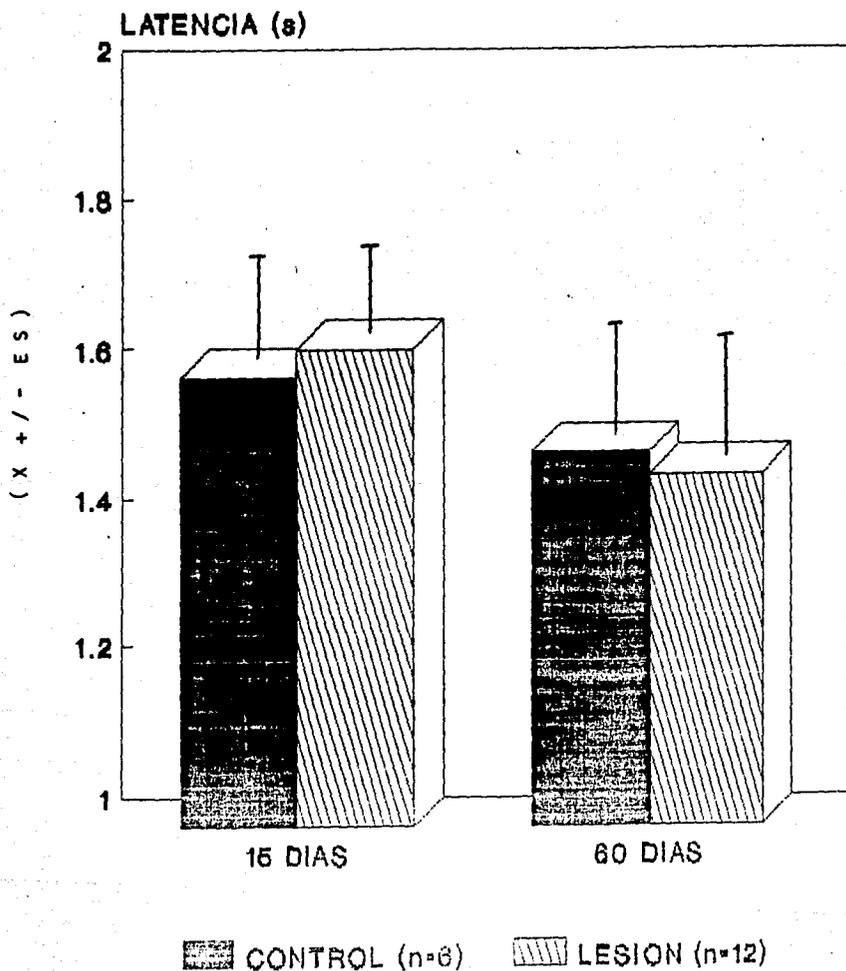


Figura 11.- Latencia mostrada en la prueba de sensibilidad.

## RESULTADOS

La figura 11 muestra la latencia que tuvieron los animales para quitar la cola ante el estímulo calorífico. En esta gráfica se puede apreciar que no existen diferencias entre los grupos, lo cual se confirmó con el análisis de la varianza de Kruskal-Wallis.

Con estos resultados se descartó la posibilidad de que la pérdida y la posterior recuperación de la respuesta de aversión se deba a un cambio en la sensibilidad en los animales lesionados y, por lo tanto, es posible suponer que los cambios observados en estos animales son debidos a una alteración en el proceso cognoscitivo.

### IV.3 EXPERIMENTO 3

En este experimento se exploró la posibilidad de que aun existiendo la recuperación sin transplante, éste pudiera modificar dicha recuperación. Para este fin se formaron 5 grupos de ratas:

- 1) Ratas lesionadas una semana antes de la adquisición y cuyo intervalo entre las dos adquisiciones fue de 1 mes (L1 n=6).
- 2) Ratas lesionadas una semana antes de la adquisición y transplantadas posterior a las pruebas de extinción, con un intervalo entre las dos adquisiciones de 1 mes (T1 n=7).
- 3) Ratas lesionadas una semana antes de la adquisición y con un intervalo de 2 meses entre las dos adquisiciones (L2 n=6).
- 4) Ratas lesionadas una semana antes de la adquisición y transplantadas posterior a las pruebas de extinción, con un intervalo de 2 meses entre las dos adquisiciones (T2 n=7).
- 5) Ratas controles (C1, n=5; C2 n=4).

Durante la primera adquisición y las primeras pruebas de extinción estuvieron unidos los grupos controles, lesionados y transplantados respectivamente.

# PARTICIPACION DEL TRANSPLANTE EN LA RECUPERACION EN LA RECUPERACION

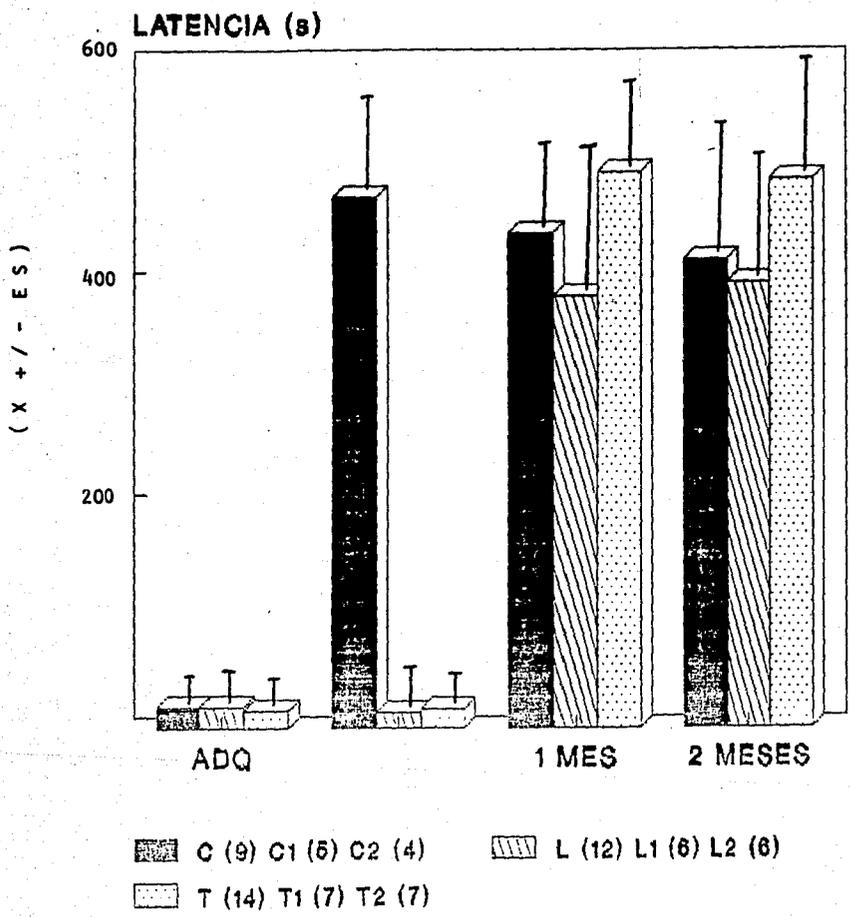


Figura 12.- Recuperación de la latencia en ratas con lesión y con transplante.

## RESULTADOS

En la gráfica 12 se muestra la latencia de paso a la zona oscura de la caja de prevención pasiva en los grupos lesionados y los controles. En la prueba que siguió a la primera adquisición solo el grupo control aumentó su latencia con respecto a la mostrada durante la sesión de adquisición ( $p < 0.01$  en la prueba de Wilcoxon).

Después de extinguir la conducta de evitación al grupo control se procedió al transplante de tejido cerebral fetal a los grupos T1 y T2. Un mes después T1, L1 y C1 y dos meses después T2, L2 y C2 se entrenaron nuevamente en la caja de prevención pasiva. En la figura 12 está representado el incremento en la latencia que experimentaron todos los grupos. La prueba de Kruskal-Wallis no reveló diferencias significativas entre los grupos.

Estos resultados nos sugirieron que la recuperación de la respuesta de aversión en ratas con lesión en la amígdala parece no depender del tiempo ni de la presencia del transplante de tejido cerebral fetal, sino de la presentación de dos adquisiciones dentro del mismo paradigma.

### IV.4 EXPERIMENTO 4

Con el fin de observar el efecto que tienen dos adquisiciones y el intervalo entre éstas sobre la recuperación de la respuesta de aversión, se formaron 4 grupos de ratas:

- 1) Ratas lesionadas cuya primera adquisición fue 15 días después de la operación y la segunda adquisición 1 mes después (L1 n=9).
- 2) Ratas lesionadas sometidas a la primera adquisición 15 días después de la operación y 2 meses después a la segunda (L2 n=7).
- 3) Ratas entrenadas por primera vez 2 meses después de la lesión y sometidas a una segunda adquisición 15 días después (L3 n=10).

# CURVA DE RECUPERACION CON LESION

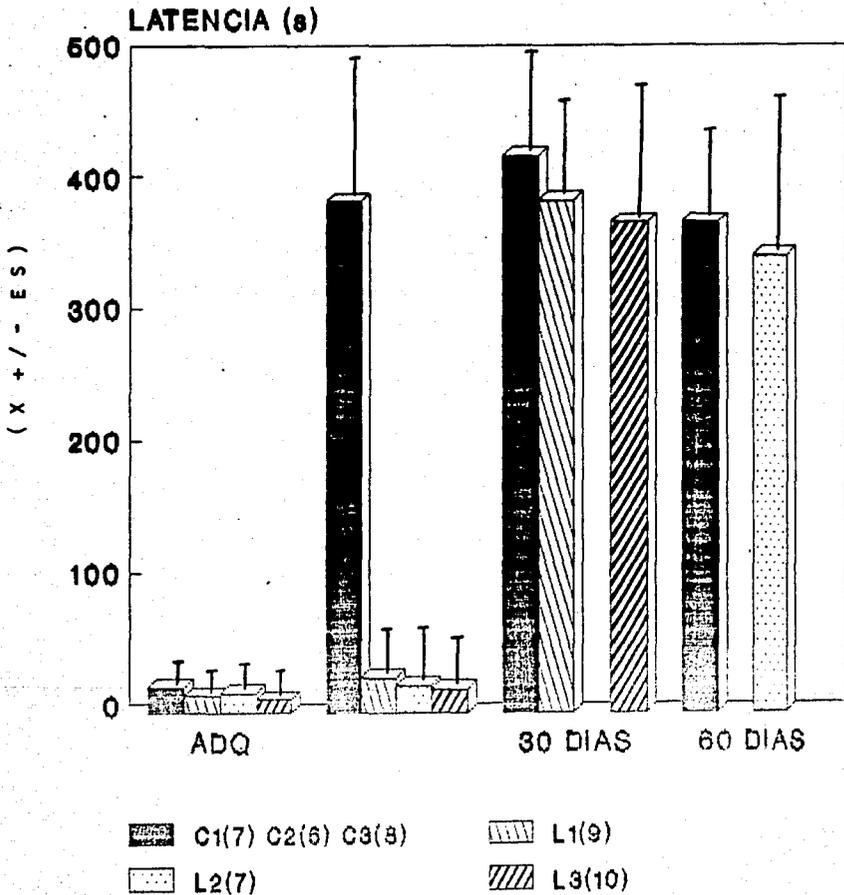


Figura 13.- Latencia mostrada en la adquisición y en las primeras pruebas de retención en animales lesionados y entrenados en dos ocasiones.

- 4) Grupos controles (C1 n=7; C2 n=6; y C3 n=8) que fueron probados paralelamente con cada uno de los tres grupos anteriores.

#### RESULTADOS

Los resultados presentados en la figura 13 muestran que tanto los grupos probados a las dos semanas (L1 y L2) como el probado a los dos meses (L3) después de la lesión, presentaron deficiencias en la conducta de evitación. Esta respuesta fue recuperada ( $p < 0.01$  en prueba de Wilcoxon) solamente en el caso en que los animales fueron sometidos a una segunda adquisición. Tanto los grupos con intervalo de dos semanas entre las dos adquisiciones (L1 y L3), como el grupo con intervalo de dos meses (L2) no presentaron diferencias significativas, en cuanto a la recuperación, entre ellos ni con respecto al grupo control.

Con estos resultados se pudo sugerir que la recuperación de la conducta de aversión que llevan a cabo los animales con lesión en la amígdala no depende del tiempo, sino de la presentación de dos adquisiciones, como se sugirió en el experimento anterior. Así mismo, la recuperación que se presentó con la segunda adquisición parece no depender del intervalo entre las dos adquisiciones, ya que no existieron diferencias en la recuperación que presentaron los grupos L1 y L3, con intervalo de 15 días, con respecto al grupo L2, con intervalo de dos meses.

#### IV.5. EXPERIMENTO 5

Este experimento se diseñó para obtener cierta información sobre el papel que desempeña la amígdala durante la adquisición y las pruebas en el paradigma de PP. Para esto se separaron a los animales en los siguientes grupos:

- 1) Ratas lesionadas después de la primera prueba (L n=7).
- 2) Animales que se mantuvieron sin lesión durante todas las pruebas (C n=6).

## RESULTADOS

En la figura 14 se muestra el comportamiento que tuvieron ambos grupos en las diferentes sesiones de retención. En la primera prueba, incrementaron su latencia sin presentar diferencias significativas entre ellos; mientras que en la primera prueba después de la lesión (segunda prueba para el grupo C), se observó una marcada disminución de la latencia en el grupo L ( $p < 0.02$  en prueba de U de Mann-Whitney).

La deficiencia presentada por L se mantuvo durante las siguientes pruebas de extinción. Dos meses después, ambos grupos fueron sometidos a una segunda adquisición.

En la primera prueba después de esta adquisición, ambos grupos incrementaron su latencia sin que hubiera diferencias significativas. Estos resultados sugirieron que los animales lesionados tienen deficiencias para ejecutar la conducta. Además, permitieron suponer que la amígdala no es una estructura que esté involucrada directamente en la integración de los estímulos, sino en la salida de la información.

Por otro lado, se apoyó la suposición del experimento anterior de que la recuperación de la respuesta en los animales lesionados es producto de la doble adquisición. Con respecto a esto, es interesante hacer la comparación entre el grupo lesionado de este experimento y el grupo L3 del experimento anterior, en los cuales se hizo una adquisición dos meses después de la lesión. La diferencia fundamental estuvo en que el primer grupo fue sometido a una adquisición previamente a la lesión. En las pruebas que se hicieron el grupo L3 mostró deficiencias conductuales mientras que el grupo lesionado en este experimento no tuvo diferencias con el control lo que hace suponer que la recuperación de la respuesta solo depende, como ya se mencionó, de la doble adquisición, independientemente del momento en que se realicen con respecto al día de la lesión.

# PERDIDA Y RECUPERACION DE LA RESPUESTA

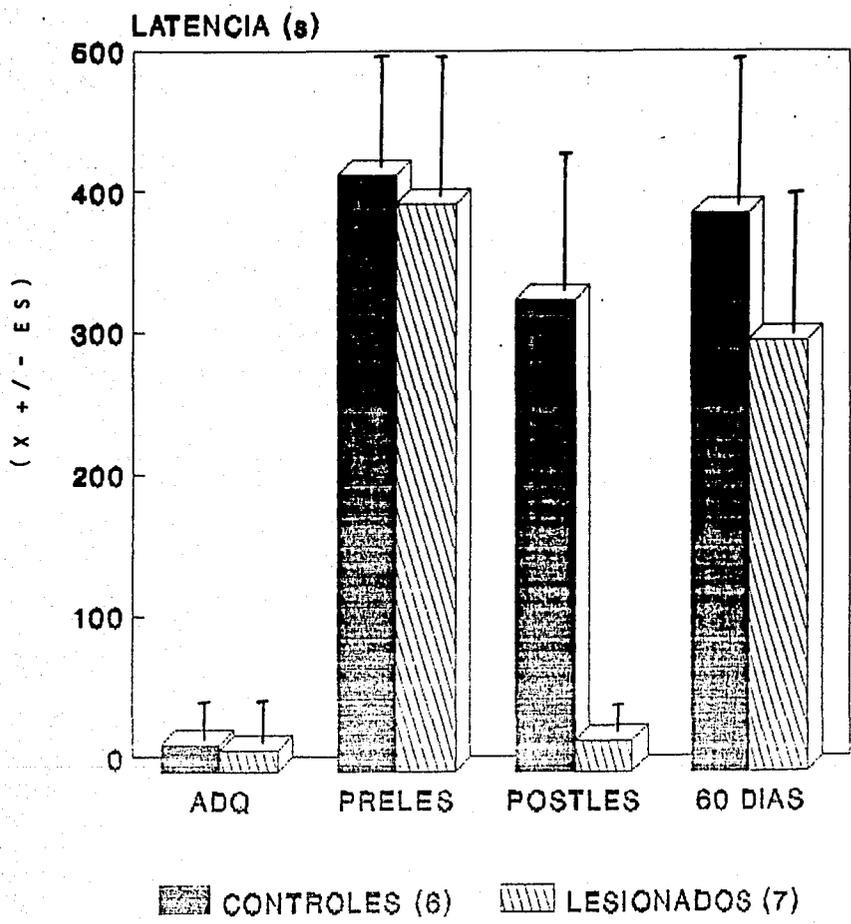


Figura 14.- Disminución de la latencia posterior a la lesión y su recuperación después de la segunda adquisición.

#### IV.6 EXPERIMENTO 6.

Debido a que los animales con lesión antes de la adquisición no recuperan la conducta con una sola adquisición, se decidió determinar el papel que desempeña el trasplante de tejido cerebral fetal en la recuperación conductual en las ratas lesionadas en estas condiciones. Para ésto se formaron 4 grupos de animales:

- 1) Ratas entrenadas por primera vez en la adquisición a los 15 días después de transplantarles tejido cerebral fetal (T1 n=6).
- 2) Ratas entrenadas 1 mes después del trasplante (T2 n=6).
- 3) Ratas entrenadas 2 meses después del trasplante (T3 n=4).

Los tres grupos se probaron paralelamente con animales lesionados (L1, L2 y L3 respectivamente n=3 en los tres casos).

- 4) Grupos controles (C1, C2 y C3 n=3 en los tres casos).

#### RESULTADOS

Los datos que se muestran en la figura 15 indican que los tres grupos con trasplante tuvieron un incremento significativo de la latencia de paso en la caja de prevención con respecto a los grupos lesionados (L1 vs T1 y L2 vs T2  $p < 0.05$ ; L3 vs T3  $p < 0.02$  en prueba de U de Mann-Whitney). Sin embargo, los grupos T1 y T2 presentaron un incremento menor comparándolos con el grupo T3 y comparándolos con sus respectivos controles ( $p < 0.02$  en prueba de U de Mann-Whitney para todos los casos). El grupo T3 no presentó diferencias significativas con respecto a su grupo control. Con estos resultados podemos decir que los animales lesionados en la amígdala y probados solo una vez en una tarea de PP, pueden recuperar la respuesta de aversión siempre y cuando se les trasplante tejido homotópico de cerebro de feto. Y basándose en las diferencias en cuanto a la magnitud de la recuperación en los grupos transplantados, es probable que el proceso dependa del tiempo.

# CURVA DE RECUPERACION CON TRANSPLANTE

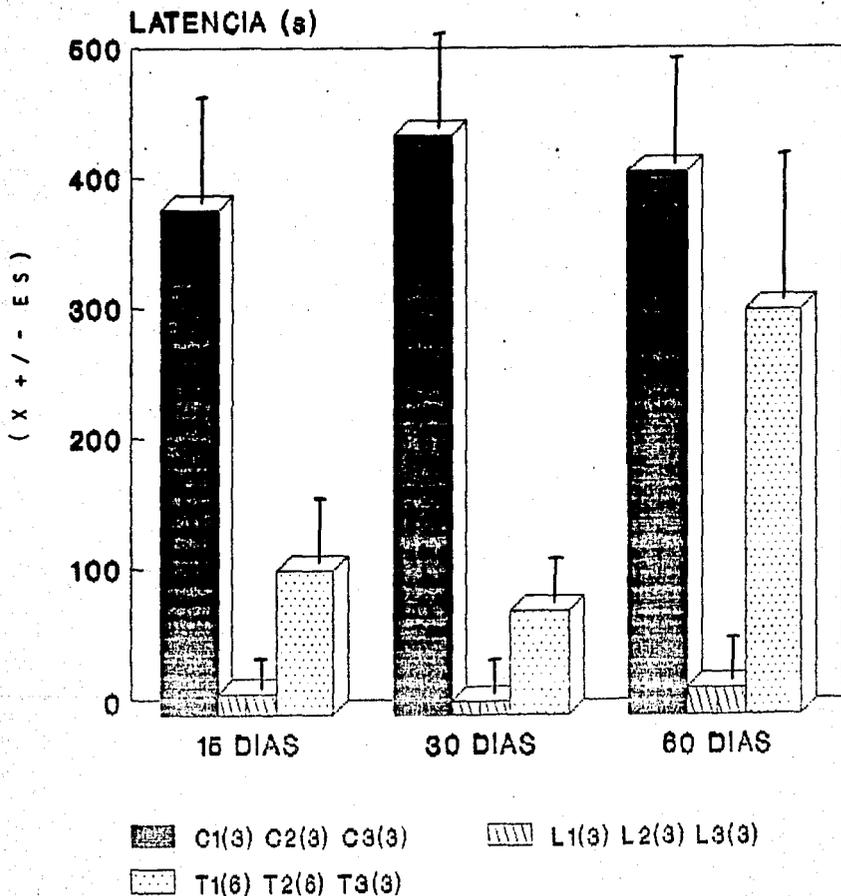


Figura 15.- Curva de recuperación de la latencia en los animales con transplante.

#### IV.7 RESULTADOS HISTOLOGICOS

**Lesiones.-** En la figura 17 se muestra la lesión menor y mayor de la amígdala. Todas las ratas lesionadas estuvieron comprendidas dentro de este rango.

**Transplantes.-** En la figura 18 están representados los transplantes menor y mayor. Los animales correspondientes estuvieron dentro del rango indicado.

**Transplantes de 15, 30 y 60 días.-** En los transplantes de 15 días se observó una mayor cantidad de células teñidas con la técnica de Nissl con respecto a los transplantes de 30 y 60 días (figura 19). Aparentemente existe una curva de disminución en el número celular con respecto al tiempo; sin embargo, en este trabajo no se hicieron cuantificaciones de este fenómeno.

Con la técnica de la reacción de la acetilcolinesterasa, se pudo observar la presencia de células reactivas solamente en el transplante de 15 días. En contraste, se apreció un incremento, con respecto al tiempo, de la reacción en las fibras dentro del transplante (figura 19a), hasta formarse, en algunos casos, núcleos de fibras reactivas (figura 19c).

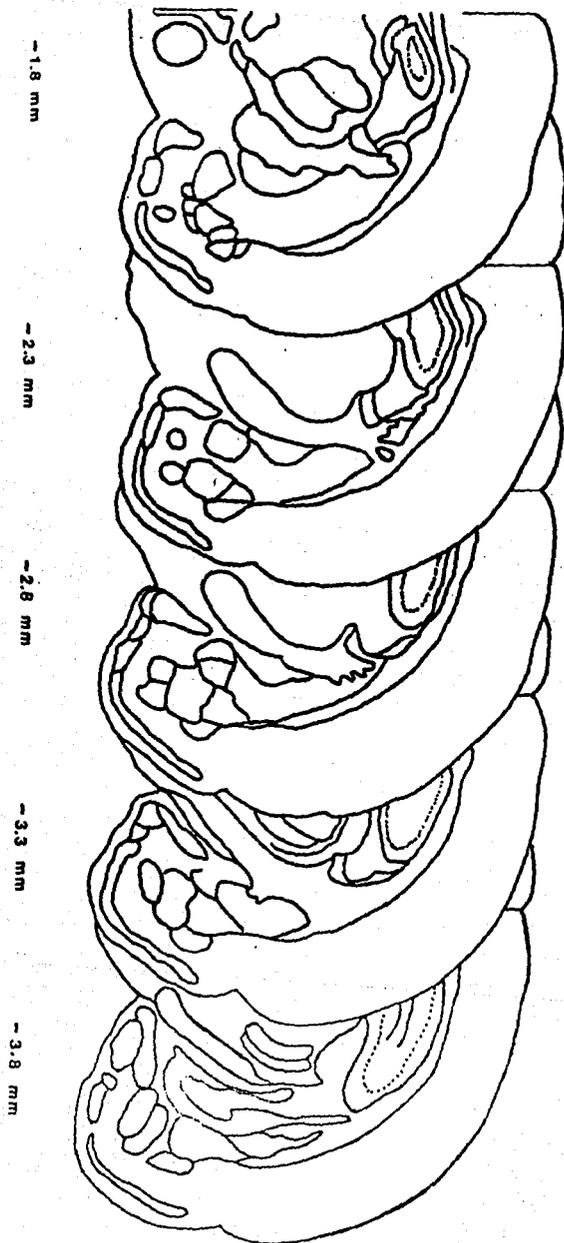


Figura 17.- Lesión mayor y menor (esquemas modificados del atlas de Paxinos y Watson, 1962)

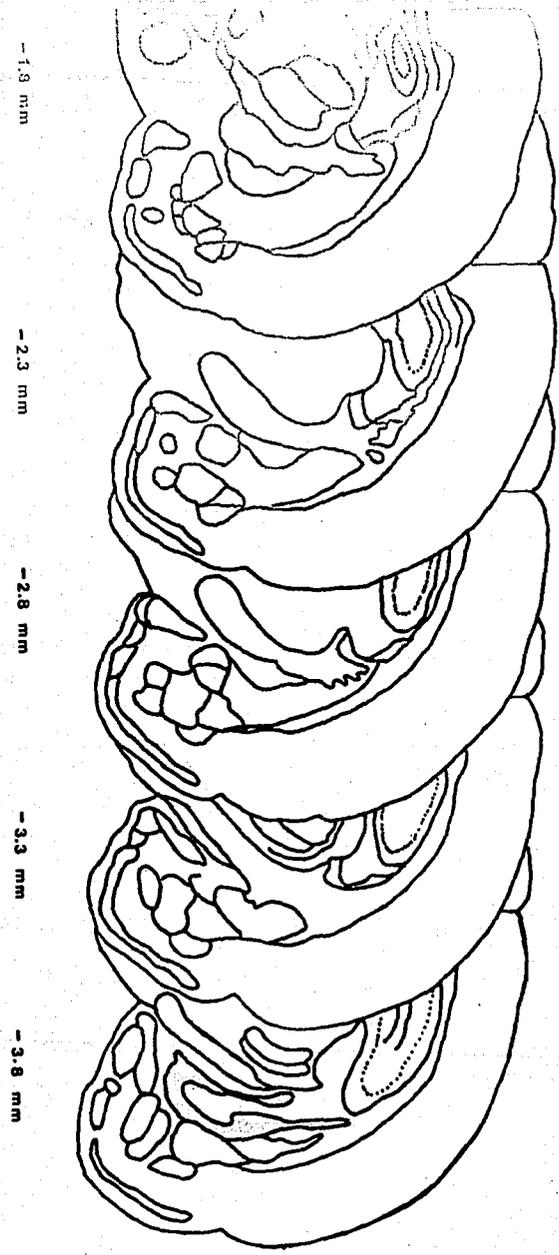


Figura 18.- Transplante mayor y menor (esquemas modificados de atlas de Paxinos y Watson, 1922).

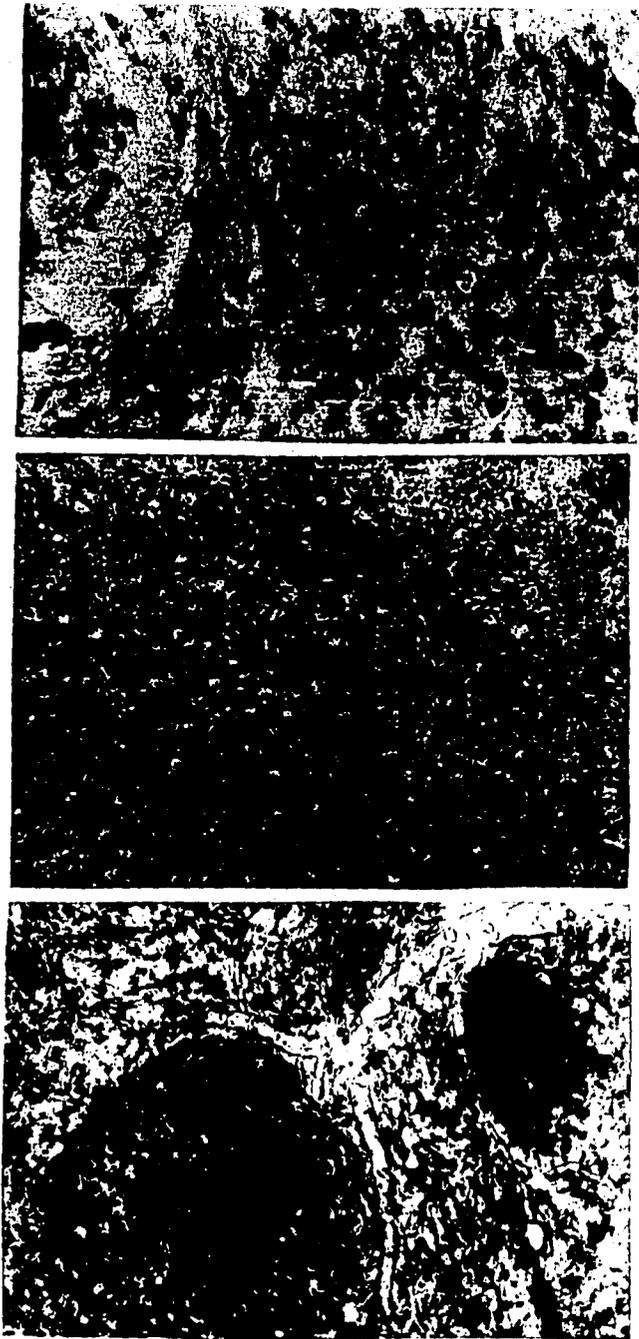


Figura 19.- Transplantes de: A. 15 días; B. 30 días y C. 60 días.  
Observaciones al microscopio óptico a 40x.

## V DISCUSION

Con los resultados que se presentan en este trabajo es posible sugerir que las ratas con lesión en la amígdala presentan, por lo menos, dos formas de recuperar la respuesta de aversión. Una de ellas, reportada anteriormente por Bermúdez-Rattoni et al. (1987-artículo del apéndice-) en el CAS, y por Peinado-Manzano (1987) en la PP, se refiere a la recuperación por la presentación de dos o más adquisiciones dentro del mismo paradigma. La otra forma es mediante el transplante de tejido cerebral fetal.

Para el caso especial de la amígdala, se tienen muy pocas evidencias que nos ayuden a esclarecer los mecanismos subyacentes al primer tipo de recuperación. Sin embargo, en esta sección se discutirán algunas hipótesis que se han dado para explicar ciertos fenómenos de plasticidad neuronal relacionados con la recuperación funcional en otras estructuras.

Por otro lado, aunque existe en la literatura un solo trabajo en donde se relaciona la recuperación de un aprendizaje por acción del transplante en la amígdala (Ermakova et al., 1989), considero que los reportes que se tienen en otras estructuras nos podrán ayudar para dar una explicación más aproximada del mecanismo responsable de la recuperación funcional que se observó en este trabajo.

Esta discusión se dividirá en cuatro partes: 1) se tratarán algunos aspectos relacionados con la estructura con la que se trabajó y la diferencia en la función que desempeña la amígdala en el CAS y en la PP. 2) se discutirán las posibles explicaciones que se tienen para la recuperación del aprendizaje de PP que se observó en este trabajo; para ello se tratarán las hipótesis de las "estrategias alternativas" y de la plasticidad neuronal. 3) se discutirá la posible relación entre la amígdala, la activación del eje pituitario-adrenal y la recuperación del aprendizaje, como un

posible mecanismo para explicar este proceso. 4) por último, se discutirá la posible participación de los trasplantes de tejido cerebral fetal en la recuperación de la conducta de evitación en animales sometidos a una sola adquisición.

#### **SOBRE EL MODELO CONDUCTUAL Y LA ESTRUCTURA CEREBRAL.**

Considero importante dar ciertas puntos acerca del papel que desempeña la amígdala tanto en el CAS como en la PP y diferenciar el fenómeno de la recuperación espontánea que se observó en estos dos paradigmas.

El modelo que desarrollaron García et al. (1985) sobre los dos tipos de aprendizaje que presentan los vertebrados, ha resultado ser una herramienta útil para el estudio de la recuperación de funciones en las que interviene el sistema nervioso central (Bermúdez-Rattoni et al., 1987a; Bermúdez-Rattoni et al., 1989; Escobar et al., 1989). Entre las diversas estructuras que se han involucrado en ambos sistemas de integración de la información (Salcedo, 1986; Bermúdez-Rattoni et al., 1989 -artículo de apéndice-), se escogió a la amígdala por ser una estructura cuya pérdida por lesión electrolítica ocasiona un deterioro de la conducta de evitación en paradigmas conductuales como la PP, dentro del sistema externo; del CAS, dentro del sistema interno; y de la aversión al olor, dentro de la potenciación del olor por el gusto.

A pesar de la información que se tiene de la amígdala y su relación con los procesos de aprendizaje, aun no se ha determinado exactamente su participación en paradigmas como los que se mencionaron anteriormente; sin embargo, el tener una estructura cerebral involucrada en los dos sistemas de integración representó, en principio, una gran ventaja para el estudio de las posibles diferencias que presentan estos sistemas en cuanto a la

recuperación funcional después de una lesión. No obstante, aunque el experimento 1 reportado en este trabajo y los resultados presentados en el segundo artículo del apéndice, pudieran apoyar la idea de que la recuperación espontánea de la respuesta de aversión se pueda llevar a cabo por mecanismos similares, es necesario hacer ciertas consideraciones con respecto a estos puntos.

La amígdala fue involucrada en el CAS desde la década de 1970 (McGowan et al., 1972; Nachman y Ashe, 1974; Mikulka et al., 1977), y se ha podido demostrar que los núcleos lateral y basolateral se encuentran mas relacionados con este condicionamiento, puesto que las lesiones electrolíticas en estos núcleos provoca deficiencias en la respuesta de aversión. Posteriormente, con técnicas de inyección de sustancias por cánulas, Bermúdez-Rattoni et al., (1986) sugirieron que el sistema colinérgico está participando en el establecimiento de este aprendizaje.

Sin embargo, en 1988 Dunn y Everitt diseñaron un protocolo para delimitar la participación de la amígdala en este condicionamiento. Ellos inyectaron ácido iboténico para destruir solamente los somas neuronales y dejar intactas las fibras de paso que se originan fuera de la amígdala. Al contrastar sus resultados con las típicas lesiones electrolíticas, encontraron que el CAS no se interrumpió en los animales con lesión con el citotóxico. Estos resultados apoyan la idea de que la amígdala no está involucrada en este condicionamiento y que las manipulaciones que se han hecho en esta estructura, de alguna u otra forma han dañado las fibras de paso importantes para el CAS.

La suposición anterior también fue apoyada con el estudio de las conexiones con la técnica de trazadores retrógrados que realizaron estos mismos autores. Ellos demostraron que la pérdida del CAS por lesiones electrolíticas está relacionada con la

pérdida de la conexión que va del núcleo ventroposteromedial del tálamo a la corteza gustativa, vía importante para la consolidación del condicionamiento (Lasiter y Glazman, 1985); en contraste, Dunn y Everitt encontraron que los animales lesionados con ácido iboténico, los cuales no presentaron deterioro del CAS, tuvieron la conexión tálamo-cortical intacta.

El caso de la prevención pasiva es diferente, debido a que se ha demostrado que las lesiones electrolíticas y con ácido iboténico en la amígdala provocan deficiencias en la respuesta de aversión (Dunn y Everitt, 1988), de tal forma que se puede asegurar que las neuronas de la amígdala, en especial las que se encuentran en el núcleo central, están involucradas directamente en este tipo de aprendizaje.

Por lo anterior podemos decir que, aunque en los dos condicionamientos antes mencionados se presenta una recuperación espontánea de las respuestas de aversión, este proceso es esencialmente diferente en ambos casos y, muy probablemente, los mecanismos subyacentes que pudieran estar involucrados también lo sean.

#### **SOBRE LOS POSIBLES MECANISMOS PROPUESTOS PARA LA RECUPERACION FUNCIONAL.**

**Estrategias alternativas.**- Los animales lesionados pueden recuperar su función gracias a la utilización de otras estructuras, de otras vías, o del empleo de otras claves ambientales. Este tipo de estrategias pueden aparentar ser una verdadera recuperación, sin embargo, debemos considerar que la conducta probablemente no está localizada en una región cerebral específica y, por lo tanto, no se estaría tratando con una recuperación como tal, sino de una estrategia diferente para la ejecución de una misma conducta.

Lo anterior llevaría a pensar que ciertas funciones del sistema nervioso presentan redundancia en cuanto a las estructuras involucradas, esto es, que podría existir más de una estructura o vía para una misma función (Marshall, 1984). Sin embargo, no se debe descartar la posibilidad de que la recuperación conductual se pueda dar por la activación de una estructura o una vía que no estaban involucradas inicialmente (Spear y Baumann, 1979).

Es probable que la recuperación de la respuesta de aversión observada en este trabajo sea consecuencia de una nueva estrategia empleada por los animales lesionados. Para explicar la recuperación del CAS y de la PP dentro de este contexto, nuevamente tenemos que tomar en cuenta el papel diferente que desempeña esta estructura en los dos condicionamientos. En el CAS, la recuperación probablemente se da por la activación de una vía diferente a la tálamo-cortical, que conecte a la corteza gustativa con la vía neuronal del CAS descrita por Lasiter y Glazman en 1985. Esta vía alternativa puede ser la que conecta al núcleo parabraquial del puente con la corteza (Saper, 1982), que al activarse provoque la recuperación conductual en los animales con transección de la vía tálamo-cortical ocasionada por la lesión electrolítica de la amígdala.

Para el caso de la PP, es posible pensar que existe otra estructura que toma la función que presenta la amígdala, ya que es la estructura y no las fibras de paso la que se encuentra involucrada en este aprendizaje.

El proceso de transferencia de la actividad ya ha sido reportado en el núcleo caudado por Prado-Alcalá et al. (1978; 1979). Estos autores han sugerido que los animales con bloqueo colinérgico en esta estructura, que presentan deficiencias conductuales, pueden presentar algún tipo de estrategia alternativa para disminuir el deterioro de la conducta. Ellos han encontrado que los animales sometidos a un sobreentrenamiento en

un condicionamiento instrumental no presentan deterioros en la conducta al ser inyectados con escopolamina o con KCl dentro del núcleo caudado. Este "movimiento del engrama" (como lo llaman los autores) puede ser un proceso que se este dando en los animales lesionados en la amígdala y sobreentrenados en el condicionamiento de PP.

Tomando en cuenta las conexiones que presenta el núcleo central de la amígdala podemos considerar al hipocampo como un candidato para reemplazar la función perdida. Una buena estrategia para aproximarnos a este problema podría ser la lesión, tanto de la amígdala como del hipocampo en diferentes momentos del condicionamiento.

Sin embargo, existe el problema de que el hipocampo es una estructura relacionada, entre otros, con aprendizajes asociativos del tipo de la PP (Isaacson y Kimble, 1972). Se sabe que la lesión bilateral en esta estructura provoca un deterioro en el aprendizaje, y no se tienen evidencias de que exista una recuperación como la reportada en este trabajo. De esta forma, considero que las lesiones dobles del hipocampo y la amígdala (aunque se sabe que provocan una deficiencia mayor que la lesión en una sola estructura (Mahut et al., 1981)) no nos darían suficiente información sobre el tipo de recuperación que está presentando el animal, ni tampoco nos aproximaría a responder la pregunta de cuál es el papel que desempeña la amígdala en el aprendizaje de PP.

Una segunda opción es que exista otro núcleo dentro de la amígdala que tome el papel del núcleo central y que exprese su funcionamiento en la segunda adquisición. Aunque tenemos animales con lesiones bilaterales que abarcan gran parte de los núcleos amígdalinos, y en especial al núcleo basolateral, que presentan recuperación en la segunda adquisición, aun no se puede descartar por completo esta posibilidad.

Es difícil diferenciar entre el tipo de estrategia alternativa que están empleando los animales lesionados en la amígdala, en caso de que sea esta la explicación de la recuperación. El problema radica, en parte, en que para el caso de la PP no se ha determinado la función específica que está realizando la amígdala. Esto es importante porque lo que puede estar ocurriendo es el proceso que se conoce como choque neuronal (Monakow, 1914 referido en Marshall, 1984; Spear y Baumann, 1979). Este término se refiere al deterioro que pueden sufrir otras áreas que se encuentran relacionadas con la estructura lesionada, y que sea ésta la causa, y no la lesión per se, la causante del deterioro conductual. De esta forma, la recuperación no estaría explicada en términos de una estrategia alternativa, sino de la recuperación de la función de las estructuras afectadas por la lesión en la amígdala.

Para aproximarnos a este problema, se planeó un experimento que pudiera darnos cierta información sobre el papel que desempeña la amígdala durante la adquisición y las pruebas en el paradigma de PP (experimento 5). Los animales lesionados presentaron un deterioro en la respuesta de aversión, a pesar de que la consolidación del aprendizaje aparentemente fuera normal. Estos resultados nos sugieren que los animales lesionados, aunque hayan permanecido intactos durante la sesión de adquisición, se encuentran incapacitados para dar una respuesta adecuada durante las pruebas posteriores a la lesión. Estos resultados apoyan la idea de que la amígdala no es una estructura integradora de la información en el aprendizaje de PP, sino que está involucrada probablemente en la salida de la información para dar la respuesta de aversión.

La suposición anterior está apoyada por los resultados que obtuvo Bush et al., (1973) en donde demostraron que los animales con lesión bilateral de la amígdala pueden recuperar la respuesta

de aversión si se les inyecta ACTH previamente a las pruebas. Esta evidencia nuevamente nos sugiere que los animales lesionados no presentan deterioro en el aprendizaje sino en la expresión de la respuesta (esta evidencia se retomará en la tercera sección de la discusión).

De cualquier forma, como se mencionó anteriormente, es necesario definir claramente la función de la amígdala, en especial del núcleo central, en la PP. De esta manera si la amígdala está involucrada, delimitar la estrategia que ocupa el animal para dar lugar a la recuperación de la función. Y por otro lado, si la amígdala no está relacionada directamente, estudiar los mecanismos de compensación o de plasticidad que llevan a cabo las estructuras cerebrales que son dañadas por el choque neuronal.

**Plasticidad neuronal.**- En contraste con la explicación que se dió anteriormente con respecto al posible mecanismo de la recuperación funcional que se observa en las ratas con lesión en la amígdala, se tiene la que toma en cuenta la capacidad que presentan las neuronas para cambiar su morfología y/o su función como respuesta ante la lesión, esto es, la plasticidad neuronal.

Finger y Almlí (1985) marcaron una diferencia entre los diversos mecanismos que se han propuesto para la recuperación de funciones; por una parte se encuentran los mecanismos estabilizadores como las estrategias alternativas y el choque neural (que se trataron en la sección anterior) y los mecanismos activos como la plasticidad neuronal (para mayor información consultar la cita).

Es un hecho conocido que la desnervación provoca una degeneración de la estructura afectada (Finger y Stein, 1982). La muerte celular que se da por este tipo de manipulaciones, durante el desarrollo o la etapa adulta se debe, muy probablemente, a la interrupción de factores tróficos que llegan a esa área (Cowan et

al., 1984). Además de esto, la muerte celular también se puede dar por la disminución de la estimulación fisiológica en determinadas estructuras (Oppenheim, 1981), aspecto que puede estar relacionado con la disminución de la acción trófica que presentan algunos neurotransmisores o neuropeptidos (Deker et al., 1987; Mattson, 1988).

De esta forma no podemos asegurar que el deterioro de una determinada función se debe a la pérdida de la estructura que hayamos lesionado o a la disminución de las funciones de otras estructuras a las cuales inervaba. Sin embargo, de una o de otra forma, el sistema nervioso presenta fenómenos de plasticidad neuronal que debemos tomar en cuenta como un posible mecanismo involucrado en la recuperación de ciertas funciones como el aprendizaje.

Debemos considerar, en primer lugar, que los daños por lesión pueden provocar deficiencias en el aprendizaje dependiendo del tamaño del daño, el sitio exacto de la lesión y la edad del animal (Irlé, 1987). Aunque el tercer parámetro no fue posible evaluarlo, podemos confiar en que los primeros no están afectando considerablemente nuestros resultados ya que tenemos animales cuya lesión en la amígdala abarca solamente al núcleo central y aquellos cuya lesión bilateral abarca aproximadamente el 70 % del total de la amígdala, y la pérdida de la respuesta de aversión y su posterior recuperación es similar en ambos casos.

Por otro lado, en términos de la plasticidad neuronal podemos considerar tres tipos de restablecimiento de las conexiones:

- 1) La regeneración axonal cuando existe una desnervación.
- 2) La hiperinervación hacia otra estructura, en el caso de que quede un cierto porcentaje de las vías.
- 3) El rebrote axonal colateral (sprouting).

La regeneración axonal es un fenómeno frecuente en el sistema nervioso periférico (Carbonetto y Muller, 1982) y poco evidente en

el sistema nervioso central (Kiernan 1979). Esta regeneración depende en gran medida de algunos factores de crecimiento neural que, en algunos casos, son liberados de las células de la glía (Meshul et al., 1987); esto se ha hipotetizado debido a que el sistema nervioso central de los vertebrados puede presentar una buena recuperación siempre y cuando se transplante nervio periférico en la zona lesionada (Bray et al., 1987). Por estos datos se ha sugerido que las diferencias en la capacidad regenerativa entre el SNC y el SNP se debe principalmente al ambiente que rodea a las respectivas neuronas y no a una capacidad intrínseca diferente.

La escasa regeneración que presentan las neuronas centrales sin la intervención del transplante de nervio periférico hace poco probable que este mecanismo sea el responsable de la recuperación funcional, tanto en el paradigma del CAS como en la PP.

Por otra parte, algunas características que presenta el núcleo central de la amígdala lo hacen un buen modelo de estudio en el mecanismo de plasticidad neuronal denominado sprouting. Como en el caso del área septal (Raisman, 1969), el núcleo central recibe dos conexiones importantes, unas que incluyen fibras provenientes del tálamo, del hipotálamo y de áreas del tallo cerebral; y otra conexión lateral que se origina del núcleo lateral y basolateral de la amígdala y en menor proporción de áreas corticales.

En un estudio realizado por Gotow et al. (1989), se demostró que las vías que vienen del hipotálamo o de otras áreas del tallo cerebral contienen péptido intestinal vasoactivo, sustancia P y neurotensina ya que la deafferentación de esta vía provoca una disminución de la inmunorreactividad a estos péptidos en el núcleo central; mientras que la somatostatina no decremента con esta lesión, por lo que se piensa que las vías somatostatinérgicas provienen de los núcleos lateral o basolateral. Después de 10, 30

y 40 días de la deaferentación, los autores demostraron un incremento sustancial en la densidad de la inmunorreactividad de las fibras somatostatinérgicas, lo que nos estaría sugiriendo un fenómeno de plasticidad neuronal por sprouting.

Existen por lo menos dos reportes más en donde se demuestra un fenómeno de plasticidad de este tipo en otros núcleos amígdalinos, en especial del núcleo medial cuando se lesiona la vía aferente que lo conecta con el bulbo olfatorio (Ichikawa, 1987a y b).

Aunque se ha demostrado que el sprouting puede llevarse a cabo en la amígdala, aun no se cuentan con evidencias que asocien este proceso con la recuperación de alguna función relacionada con esta estructura. Además, es importante hacer notar la diferencia en cuanto al tiempo que tarda la reorganización sináptica por el mecanismo de sprouting y el tiempo de recuperación de la respuesta de aversión que se encontró en este trabajo. Por ejemplo, Raisman et al. (1969) reportaron que después de la lesión en la fimbria las sinápsis en el septum decrecieron en un 40% y su valor normal regresó a la cuarta semana; McWilliams y Lynch (1979) demostraron que después de la lesión de la corteza entorrinal, la densidad sináptica disminuyó en el giro dentado a un 22% y regresó a sus valores normales después de 2 meses; Por su parte, Zimmer et al (1982) reportaron una disminución de la densidad sináptica en la habenua de un 30% y la recuperación al 80% se llevó a efecto en 100 días.

Con los resultados que se tienen se sabe que el sprouting es un proceso activo que requiere de cierto tiempo para su realización. En contraste, los resultados del experimento 4 sugirieron que la recuperación de la respuesta no depende del tiempo, sino de dos adquisiciones.

## LA AMIGDALA Y LA REGULACION ENDOCRINA.

El deterioro de la respuesta de aversión por la lesión de la amígdala puede estar asociado a los mecanismos de regulación endócrina de los procesos cognoscitivos. Esta sugerencia está apoyada por las siguientes evidencias:

1) La relación del eje pituitario-adrenal y los procesos de aprendizaje y memoria. Estos estudios se han desarrollado desde la década de 1960 y en forma general han establecido que los péptidos pituitarios, como la ACTH y la vasopresina, incrementan el período de extinción de la respuesta de aversión en paradigmas conductuales como el CAS y la PP; mientras que las hormonas corticosuprarrenales disminuyen este período de extinción. Así mismo se han involucrado en la regulación de este eje a estructuras límbicas como el hipocampo y la amígdala (ver tercer artículo en el apéndice).

2) La recuperación de la respuesta por inyección de ACTH. Bush et al (1973) en PP y Burt y Smotherman (1980) en el CAS reportaron que la aplicación subcutánea de ACTH antes de las pruebas, provoca la recuperación de la respuesta de aversión en ratas con lesión bilateral en la amígdala. Ellos propusieron que la ACTH incrementa o potencia los procesos excitatorios que conducen a dar una respuesta de aversión y que su liberación, durante momentos de estrés, se encuentra disminuida por la lesión en la amígdala. Este hecho les condujo a apoyar la idea de que la amígdala tiene un efecto excitatorio en la liberación del péptido durante situaciones de estrés.

3) Regulación de la secreción de ACTH por la amígdala. Beaulieu et al. (1986) dieron las primeras evidencias de que existe una relación directa entre la amígdala y la liberación de ACTH. Ellos reportaron que el sistema serotoninérgico que conecta al núcleo central de la amígdala con el hipotálamo participa activamente en esta liberación durante un momento de estrés. Mas tarde, estos

mismos autores dieron datos en los cuales se demuestra la participación que tiene el núcleo central de la amígdala en la secreción del factor liberador de la corticotropina (Beaulieu et al., 1989).

Estas tres evidencias nos permiten suponer que el deterioro en la respuesta en las ratas a las que se les lesionó la amígdala se debe a una deficiencia en la respuesta pituitario-adrenal y no a un problema en la integración de la información; en otras palabras, la función que podría tener la amígdala no es la integración de los estímulos, sino la de "preparar" al organismo ante una situación de estrés estimulando la liberación hormonal.

Por otro lado, aunque no se tienen evidencias que indiquen que los animales con lesión en la amígdala pueden recuperar la respuesta pituitario-adrenal normal, existen datos que prueban que este eje puede ser sensibilizado por estimulación con diferentes intensidades o con estimulación repetida (Jones y Gillham, 1988). Estos datos apoyan los resultados que obtuvimos, ya que es necesaria una segunda adquisición (una segunda estimulación) para que el animal recupere la respuesta de aversión. En este punto es necesario hacer un protocolo experimental que nos permita conocer la relación entre las dos adquisiciones y la actividad del eje pituitario-adrenal.

Ante la imposibilidad de dar una respuesta pituitario-adrenal adecuada y la deficiencia presentada en la respuesta conductual se ha pensado que los animales con lesión en la amígdala presentan una "pérdida del miedo" ante estímulos nuevos (Masterson y Crawford, 1982) atribuido al núcleo central de la amígdala (Werka et al., 1978). Esta idea ha sido apoyada recientemente con el trabajo de Dunn y Evrit (1988) en el cual se propone que la amígdala está involucrada en la respuesta que da el animal ante ambientes o estímulos novedosos, ya que los autores reportaron que las deficiencias conductuales en PP y en CAS se dan solamente en

animales amigdalectomizados que no fueron acostumbrados a las respectivas cajas de condicionamiento antes de la adquisición. Aquellos animales lesionados que estuvieron en un "ambiente familiar" el día de la adquisición no presentaron deficiencias en la respuesta.

Ante esto, se podría pensar que nuestros animales lesionados no presentan deficiencias conductuales en la segunda adquisición debido a que están ya en un ambiente familiar (hay que recordar que los animales se probaron por lo menos durante 5 días después de la primera adquisición, durante el período de extinción), y por lo tanto la amígdala ya no interviene en la integración de los estímulos.

Existe una serie de interrogantes con respecto a la intervención de la amígdala en los paradigmas del CAS y de la PP, así como de los mecanismos responsables de la recuperación conductual en los animales amigdalectomizados. Considero que la relación amígdala-sistema endócrino-conducta es un mecanismo de regulación interesante y poco estudiado, que nos puede ofrecer una visión más integrativa sobre el funcionamiento de esta estructura límbica, además de darnos una información valiosa para el estudio de la recuperación funcional después de un daño en el SNC.

#### **PARTICIPACION DEL TRANSPLANTE.**

El transplante de tejido nervioso ha llegado a ser una de las herramientas más utilizadas para los estudios sobre la recuperación funcional del SNC posterior a una lesión. Los trabajos que se han realizado en este sentido han podido establecer que los trasplantes muestran conectividad con el tejido huésped (Lund y Hauschka, 1976; Hallas et al., 1980 Björklund y Stenevi, 1984) y permiten la recuperación de ciertas funciones (Dunnett et al., 1982; Drucker-Colin et al., 1984) y de

algunos procesos cognoscitivos (Dunnett et al., 1982; Bermúdez-Rattoni et al., 1987 -segundo artículo-).

Los estudios que se han hecho con esta técnica en el sistema límbico han centrado su atención en el hipocampo, una estructura cuya morfología y comunicaciones con el septum y con la corteza entorrinal son bien conocidas (Cotman y Nadler, 1976). En este sentido se han hecho diversas manipulaciones, como las lesiones de las vías aferentes o lesiones que afectan directamente al hipocampo, con lo que se ha podido demostrar que el transplante puede inducir la recuperación de la vía (Kromer et al., 1981a; 1981b), de la comunicación neuroquímica (Björklund et al., 1983), de la función hipocampal (Low et al., 1982; Kelly et al., 1985;) y de algunos procesos cognoscitivos (Low et al., 1982).

Con respecto a la amígdala se tiene solamente un reporte en donde se relaciona la recuperación de un proceso cognoscitivo y el transplante de tejido cerebral fetal. En este trabajo Ermakova et al. (1989) demostraron que las ratas con lesiones de la amígdala con ácido kaínico pueden recuperar parcialmente la memoria de trabajo en un laberinto radial. Sin embargo, estos autores sugieren que el transplante no reconstituye la estructura necesaria en la memoria de trabajo, sino que previene la degeneración de las zonas adyacentes a la amígdala que se ocasiona por la aparición de un estado epiléptico en el animal. Estos autores apoyaron su sugerencia con las observaciones de los animales lesionados con y sin transplante en donde demuestran el desarrollo de la degeneración en estructuras distantes al sitio de lesión y la prevención de esta degeneración en los animales con transplante.

Es necesario aclarar que el desarrollo de un estado epiléptico y la subsecuente degeneración de estructuras adyacentes solo se ha observado en lesiones amigdalinas con ácido kaínico; en

contraste, se sabe que las lesiones electrolíticas y con radiofrecuencia no provocan este tipo de problemas (Becker et al., 1980). Esto es necesario tomarlo en cuenta ya que las lesiones que se reportan en este trabajo no provocan la degeneración como la que reportan Ermakova y sus colaboradores y, por lo tanto, es posible pensar que el trasplante está participando en la recuperación de la respuesta de aversión, más que en la prevención de la degeneración provocada por la lesión.

Los datos que aparecen en la figura 15, en donde se ve una clara diferencia entre la recuperación que presentan los grupos con trasplante a los 15 y 30 días con respecto al grupo de 60 días, nos sugiere que el mecanismo responsable de la recuperación conductual puede ser la aparición de la comunicación entre el trasplante y el huésped, fenómeno que se ha reportado anteriormente en animales con trasplante de corteza gustativa sometidos al CAS (Bermúdez-Rattoni et al., 1989; Escobar et al., 1989). Sin embargo no debemos desconocer la posibilidad de que existan factores que sean liberados por el trasplante que se expresen tardíamente durante el desarrollo y que sea esta, más que el establecimiento de conexiones, la causa de la recuperación conductual.

La disminución en el número de células que se observó a lo largo del desarrollo del trasplante con la técnica de Nissl, puede explicarse por el mismo mecanismo de muerte celular que ocurre durante el desarrollo normal del SNC. Esta hipótesis desarrollada por Cotman y Nadler (1976), nos dice que las células blanco liberan factores importantes tanto para el establecimiento como para la supervivencia de una determinada conexión y las células que no pueden consolidar esta comunicación durante el desarrollo, generalmente mueren por la falta de factores tróficos o por la falta de comunicación eléctrica. En todo este proceso probablemente se lleva a cabo lo que se ha denominado como

competencia de las sinápsis.

A pesar de la disminución del número de células teñidas en Nissl, se observó un aumento en la reacción de la acetilcolinesterasa, la enzima responsable de la degradación de la acetilcolina, que nos sugiere una especialización celular y/o un incremento de la actividad del sistema colinérgico en el trasplante. Aunque es necesario medir la actividad de la enzima de síntesis, más que la de degradación, para hacer aseveraciones sobre la actividad del neurotransmisor.

Los resultados sobre la disminución en el número celular y el aumento de la reacción de la enzima, son comparables a los observados en un reporte previo con trasplante en la corteza gustativa (Escobar et al., 1989). En este trabajo se sugiere que la curva de recuperación conductual que se observa en ratas con trasplante de 15, 30 y 60 días puede estar relacionada con la actividad del neurotransmisor. Esta sugerencia se ha visto apoyada por los trabajos de López et al (1990 a y b) en donde demuestran que la actividad colinérgica en el trasplante, medida por métodos de liberación y por la actividad de las enzimas de síntesis de la acetilcolina, es dependiente del tiempo y esta correlacionada con la recuperación conductual. Con estos resultados se ha propuesto que la comunicación trasplante-huesped y la actividad colinérgica son requisitos indispensables para que se lleve a cabo la recuperación de la respuesta de aversión en el CAS, ya que los trasplantes heterotópicos, en donde no se ha demostrado el restablecimiento de las conexiones ni la actividad neuroquímica normal, van acompañados por la deficiencia en la respuesta conductual.

Por otra parte, Blozovsky y Duméry (1987) y de Duméry y Blozovsky (1987), demostraron que durante el desarrollo normal de la rata, el sistema colinérgico está participando activamente en la adquisición del aprendizaje de PP. Los resultados de estos

autores indican que la dificultad en el establecimiento del aprendizaje en ratas jóvenes con respecto a los adultos está correlacionada con el cambio en el desarrollo ontogenético de los receptores de la acetilcolina. En este estudio se demostró que los receptores nicotínicos solo intervienen en el aprendizaje de PP durante los primeros estados del desarrollo (entre los días 13-30 de edad), mientras que los receptores muscarínicos participan preferentemente después de los 30 días de edad, aproximadamente.

Dentro de este contexto sería muy importante e interesante el estudio en los trasplantes amigdalinos, no solo del desarrollo de la actividad colinérgica en términos de la síntesis y liberación, sino también sobre el desarrollo del sistema de recepción a lo largo del tiempo, y determinar su relación con la recuperación que se observó en los animales con trasplante probados en una sola sesión de adquisición.

#### **CONSIDERACIONES FINALES.**

La amígdala es una estructura compleja, con diversas interconexiones entre sus núcleos y entre estructuras extraamigdalinas, y es probable que las discrepancias que se ven en la literatura sobre su participación en diferentes funciones se debe a que no se toman en cuenta estas intercomunicaciones. Por ello es necesario subdividir, con más especificidad a esta estructura y trabajar más con la relación estructura-función de cada núcleo.

Si bien es cierto que los estudios utilizando la técnica de lesión electrolítica nos han dado una información importante acerca del funcionamiento del SNC, es necesario utilizar, en lo sucesivo, diversas técnicas que nos permitan definir con más claridad la participación de la amígdala en el CAS y en la PP. Esto es fundamental para dirigir las siguientes investigaciones

encaminadas a explorar los mecanismos responsables de la recuperación de la respuesta en animales lesionados.

Considero que el modelo que se obtuvo de la recuperación de la respuesta de aversión con una o dos adquisiciones es importante, debido a que permite realizar estudios, tanto de la participación del trasplante de tejido cerebral fetal, como de los mecanismos de compensación o de plasticidad neuronal dentro de una misma estructura.

## VI REFERENCIAS

- Beaulieu, S., T. Di Paolo y N. Barden. 1986. Control of ACTH secretion by the central nucleus of the amygdala: implication of serotonergic system and its relevance to the glucocorticoid delayed negative feedback mechanism. *Neuroendocrinol.* 44: 247-254
- Beaulieu, S., T. Di Paolo y N. Barden. 1989. Influence of the central nucleus of the amygdala on the content of CRF in the median eminence. *Neuroendocrinol.* 49:
- Becker, J.T., J.A. Walker y D.S. Olton. 1980. Neuroanatomical bases of spatial memory. *Brain Res.* 200: 307-320.
- Bermúdez-Rattoni, F., G. Roldan, M.A. Sánchez y M.L. Marquez. 1985. The septo-hippocampal role in the acquisition of taste potentiated odor aversion learning. *Soc Neurosci Abstr.* 15: 1112.
- Bermúdez-Rattoni, F., S.W. Kiefer, C.V. Grijalva y J. Garcia. 1986. Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions. *Physiol Behav.* 38: 503-508.
- Bermúdez-Rattoni, F., K.L. Coburn, J. Fernández, A.F. Chavez y J. Garcia. 1987. Potentiation of odor by taste and odor aversion in rats are regulated by cholinergic activity of dorsal hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav.* 26: 553-559.
- Bermúdez-Rattoni, F., J. Fernández, M.A. Sánchez, R. Aguilar-Roblero y R.R. Drucker-Colín. 1987. Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning. *Brain Res.* 416: 147152.
- Bermúdez-Rattoni, F., J. Fernández y M.L. Escobar. 1989. Fetal brain transplants induce recovery of morphological and learning deficits of cortical lesioned rats. en : Canedo, L.E., L.E. Todd, L. Parker y J. Jaz. *Cell function and disease.* Plenum Publishing Corporation. pp. 261-273.
- Björklund, A., M. Segal y U. Stenevi. 1979. Functional reinnervation of rat hippocampus by locus coeruleus implants. *Brain Res.* 170: 409-426.
- Björklund, A. y U. Stenevi. 1984. Intracerebral implants: Neuronal replacement and reconstruction of damaged circuits. *Ann Rev*

Neurosci. 7: 279-308.

- Björklund, A., Schmidt, F.H., R.H. Stenevi y S.B. Dunnett. 1983. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions VII. Recovery of choline acetyltransferase activity and acetylcholine synthesis in the denervated hippocampus reinnervated by septal suspension implants. *Acta Physiol Scand, Suppl.* 552: 59-66.
- Björklund, A., S.B. Dunnett, U. Stenevi, M.E. Lewis y S.D. Iversen. 1980. Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. *Brain Res.* 199: 307-333.
- Blozovsky, D. y V. Duméry. 1987. Development of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat II: Nicotinic mechanisms. *Exp Brain Res.* 67: 70-76.
- Braun, J.J., T.B. Slick y J.F. Lorden. 1972. Involvement of gustatory neocortex in the learning of taste aversions. *Physiol Behav.* 9: 637-641.
- Bray, G.M., M.P. Villegas-Pérez, M. Vidal-Sauz y A.J. Aguayo. 1987. The use of the peripheral nerve grafts to enhance neuronal survival promote growth and permit terminal reconnections in the central nervous system of adults rats. *J. Exp. Biol.* 132: 5-19.
- Burt, G.S. y W.P. Smotherman. 1980. Amygdalectomy induced deficits in conditioned taste aversion: possible pituitary-adrenal involvement. *Physiol Behav.* 24(4): 651-655.
- Bush, D.F., R.H. Lovely Y R.R. Pagano. 1973. Injection of ACTH induces recovery from shuttle-box avoidance deficit in rat with amygdaloid lesions. *J Comp Physiol Psychol.* 83: 168-172.
- Carbonetto, S. y K.J. Muller. 1982. Nerve fiber growth and the cellular response to axotomy. *Current topics in Developmental Biology.* 17: 33-76
- Carlsen, J. y L. Heimer. 1988. The basolateral amygdaloid complex as a cortical-like structure. *Brain Res.* 441: 377-380.
- Cotman, C.W. y J.V. Nadler. 1978. Reactive synaptogenesis in the hippocampus. en: C.W. Cotman (ed). *Neural plasticity.* New York Raven. pp. 227-271.
- Cowan, W.M. J.W. Fawcett, D.D.M. O'Leary y B.B. Stanfield. 1984.

- Regressive events in neurogenesis. *Science* 225: 1258-1265.
- Das, G.D., B.H. Hallas y K.G. Das. 1980. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. I. Growth characteristics of neocortical transplants from embryos of different ages. *Am J Anat.* 158: 135-145.
- Deker, A., W.H. Gispen y D. deWied. 1987. Axonal regeneration, growth factors and neuropeptides. *Life Sci.* 41(14):1667-1678.
- Drucker-Colín, R.R., R. Aguilar-Roblero, F. García-Hernández, F. Cancino y F. Bermúdez-Rattoni. 1984. Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Res.* 311:353-357.
- Duméry, V. y D. Blozovski. 1987. Developmental of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat I: Muscarinic mechanisms. *Exp Brain Res.* 67: 61-69.
- Dunnett, S.B., W.C. Low, S.D. Iversen, U. Stenevi y A. Björklund. 1982. Septal transplants restore maze learning in rat with fornix-fimbria-lesion. *Brain Res.* 251:355-358.
- Dunn, L.T., y B.J. Everitt. 1988. Double dissociation of the effect of amygdala and insular cortex on conditioned taste aversion, passive avoidance, and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behav Neurosci.* 102(1): 3-23.
- Ermakova, I.V., E.V. Loseva., V. Valkuskova y J. Bures. 1989. The effect of embryonal amygdala grafts on the impairment of spatial working memory elicited in rats by kainate-induced amygdaloid damage. *Physiol Behav.* 45: 235-241.
- Escobar, M.L., J. Fernández, R. Guevara-Aguilar y F. Bermúdez-Rattoni. 1989. Fetal brain graft induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain Res.* 478: 368-374.
- Finger, S. y D.G. Stein. 1982. Brain damage and recovery: research and clinical perspectives. Academic Press. New York. 368 pp.
- Finger, S. y C.R. Almlí (eds). 1985. Early brain damage. Vol. 2, *Neurobiology of Behavior*. Academic Press. New York. 387 pp.
- Fonberg, E. 1968. The role of the amygdaloid nucleus in animal behavior. *Progr Brain Res.* 22: 273-281.
- García, J. y R García y Robertson. 1984. Evolution of learning mechanisms. en: Hammond, B. (ed). *Psychology and learning*.

American Psychology Association. pp 191-

- Garcia, J., P.A. Lasiter, Bermúdez-Rattoni, F. y D. Deems. 1985. A general theory of aversion learning. en: Bravemen, N.S. y Bronstein, P. Experimental assessments and clinical application of conditioned food aversion. Annals of the New York Academy of Sciences. Vol 443. pp 8-21.
- Glick, S.D. y S Greenstein. 1973. Comparative learning and memory deficits following hippocampal and caudate lesions in mice. J. Comp. Physiol. 82: 188-194.
- Gotow, T., T.H. Williams, J.Y. Jew, M.D. Cassell, M. Palkovits y P.H. Hashimoto. 1989. Collateral sprouting of somatostatin-immunoreactive axons after partial deafferentation of the central nucleus of the rat amygdala. Brain Res. 492: 325-336.
- Hallas, B.H., G.D. Das y K.G. Das. 1980. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. II. Growth characteristics of neocortical transplants in host of different ages. Am J. Anat. 158: 147-159.
- Ichikawa, M. 1987. Synaptic reorganization in the medial amygdaloid nucleus after lesion of the accessory olfactory bulb of adult rat. I. Quantitative and electron microscopic study of the recovery of synaptic density. Brain Res. 420: 243-252.
- Ichikawa, M. 1987. Synaptic reorganization in the medial amygdaloid nucleus after lesion of the accessory olfactory bulb of the rat. II. New synapses formation in the medial amygdaloid nucleus by fibers from the bed nucleus of stria terminalis. Brain Res. 420: 253-258.
- Irle, E. 1987. Lesion size and recovery of function: some new perspectives. Brain Res Rev. 12: 307-320.
- Isaacson, R.L y D.P. Kimble. 1972. Lesions of the limbic system: their effects upon hypotheses and frustration. Behav Biol. 7: 767-793.
- Kaada, B.R. 1972. Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to junctional representation. En: B.E. Eleftheriou (ed). The neurobiology of the amygdala. New York: Plenum Press. pp 205-281.
- Kelly, P.A.T., F.H. Gage, N. Ingvar, O. Lindvall, U. Stenevi, y A.

- Björklund. 1985. A functional reactivation of the deafferented hippocampus by embryonic septal grafts as assessed by measurements of local glucose utilization. *Ex. Brain. Res.* 58: 570-579.
- Kiefer, S.W. 1985. Neural mediation of conditioned food aversion. en: Bravemen, N.S. y Bronstein, P. *Experimental assessments and clinical application of conditioned food aversion. Annals of the New York Academy of Sciences.* Vol 443. pp 100-109.
- Kiernan, J.A. 1979. Hypotheses concerned with axonal regeneration in the mammalian nervous system. *Biol Rev.* 54: 155-197.
- Koolhaas, J.M., T. Schuurman y P.R. Wiepkema. 1980. The organization of intraespecific agonistic behavior in the rat. *Progr Neurobiol.* 15: 247-268.
- Kromer, L.F., A. Björklund y U. Stenevi. 1981. Innervation of embryonic hippocampal implants by regenerating axon of cholinergic septal neurons in the adult rat. *Brain Res.* 210: 153-171
- Kromer, L.F., A. Björklund y U. Stenevi. 1981. Regeneration of septo-hippocampal pathway in adult rats is promoted by utilizing embryonic hippocampal implants as bridges. *Brain Res.* 210: 173-200.
- Lasiter, P.S. y D.L. Glanzman. 1985. Cortical substrates of taste aversion learning: involvement of the dorsolateral amygdaloid nuclei and temporal neocortex in taste aversion learning. *Beh Neurosci.* 99: 257-276.
- Lehman, M.N., S.S. Winaus y J.B. Powers. 1980. Medial nucleus of the amygdala mediates chemosensory control of male hamster sexual behavior. *Science.* 210: 557-559.
- López-García, J.C., J. Fernández, F. Bermúdez-Rattoni y R. Tapia. (en prensa). Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. *Brain Res.*
- López-García, J.C., F. Bermúdez-Rattoni y R. Tapia. (en prensa). Release of acetylcholine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, dopamine and glutamic acid from gustatory neocortex slice. *Brain Res.*
- Low, W.C., P.R. Lewis, S.T. Bunch, S.B. Dunnett, S.R. Thomas, S.D. Iversen, A. Björklund y U. Stenevi. 1982. Functional recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. *Nature.* 300:

260-262.

- Luiten, P.G.M., J.M. Koolhas, S. deBar y S.J. Koopman. 1985. The cortico-medial amygdala in the central nervous system organization of agonistic behavior. *Brain Res.* 332: 283-297.
- Lund, R.D. y S.D. Hauschka. 1976. Transplanted neural tissue develops connections with host rat brain. *Science* 193: 582-584.
- Kaada, B.R. 1972. Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to functional representations. en: B.E. Eleftheriou (ed). *The neurobiology of amygdala of the amygdala.* New York, Plenum Press. pp 205-281.
- Mahut, H., S. Zola-Morgan y M. Moss. 1982. Hippocampal resections impair associative learning and recognition memory in the monkey. *J Neurosci.* 2: 1214-1229.
- Marshall, J.F. 1984. Brain function: neural adaptations and recovery from injury. *Ann Rev Psychol.* 35: 277-308.
- Masterson, F.A. y M. Crowjard. 1982. The defense motivation system: a theory of avoidance behavior. *Behav Brain Res.* 5: 661-696.
- Matsuyama, H., R.B. Mims, A. Rhhanann-Wennhold y D.H. Nelson. 1971. Bioassay and radioimmunoassay of plasma ACTH in adrenalectomized rats. *Endocrinol.* 88: 696-701.
- Mattson, M.P. 1988. Neurotransmitters in the regulation of neuronal cytoarchitecture. *Brain Res Rev.* 13: 179-212.
- McGowan, B.K., W. Hankins y J. Garcia. 1972. Limbic lesions and the control of the internal and external environment. *Beh Biol.* 7: 841-852.
- McIntyre, M. y D.G. Stein. 1973. Differential effects of one- vs two-stage amygdaloid lesions on activity, exploratory, and avoidance behavior in the albino rat. *Behav Biol.* 9: 451-465.
- McWilliams, R. y G. Lynch. 1979. Terminal proliferation in the partially deafferented dentate gyrus: time courses for the appearance and removal of degeneration and the replacement of lost terminals. *J. Comp. Neurol.* 187: 191-198.
- Meshul, C.K., F.J. Seil y R.M. Herndon. 1987. Astrocytes play a role in regulation of synaptic density. *Brain Res.* 402:

139-145.

- Mikulka, P.J., F.G. Freeman y P. Lidstrom. 1977. The effect of training technique and amygdala lesions on acquisition and retention of taste aversion. *Behav Biol.* 19: 509-517.
- Nachman, M. y J.H. Ashe. 1974. Effects of basolateral amygdala lesions on neophobia, learned taste aversion, and sodium appetite in rats. *J Comp Physiol Psychol.* 87: 622-643.
- Olmos, J. de, G.F. Alheid y C.A. Beltramino. 1985. Amygdala. en: G. Paxinos (ed). *The rat nervous system I: Forebrain and midbrain.* Academic Press, Australia. pp 223-334.
- Oppenheim, R.W. 1981. Cell death of motoneurons in the chick embryo spinal cord: V. Evidence on the role of cell death and neuromuscular function in the formation of specific peripheral connections. *J Neurosci.* 1: 141-151.
- Paxinos, G. y C. Watson. 1982. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press.
- Peinado-Manzano, M.A. 1987. Intervention of the basolateral amygdala on the retention of one trial versus multiple trial passive avoidance learning. *Med Sci Res.* 15: 245-246.
- Prado-Alcalá, R.A., J. Grimberg, L. Arditti, M. García-Muñoz, G.R. Prieto y H. Brust-Carmona. 1975. Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of the corpus striatum in rats. *Physiol Behav.* 15: 283-287.
- Prado-Alcalá, R.A., F. Bermúdez-Rattoni, D.N. Velázquez-Martínez y G.M. Bacha. 1978. Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci.* 23: 889-896.
- Prado-Alcalá, R.A., P. Kaufmann y R. Moscona. 1979. Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 12: 249-253.
- Raisman, G. 1969. Neuronal plasticity in the septal nucleus of the adult rat. *Brain Res.* 14: 25-48.
- Richardson, J.S. 1973. The amygdala: Historical and functional analysis. *Act Neurobiol Exp.* 33: 623-648.
- Rusiniak, K.W., W.G. Hankins, J. Garcia and L.P. Brett. 1979.

- Flavor-illness aversion: Potentiation of odor by taste in rats. *Behav Neural Biol.* 25: 1-17.
- Salcedo, L.A. 1986. Papel del núcleo caudado y de la amígdala en procesos de aprendizaje y memoria. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Saper, C.B. 1982. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.* 197: 291-317.
- Sarter, M. y H.J. Markowitsch. 1986. Involvement of the amygdala in learning and memory: A critical review with emphasis on anatomical relations. *Behav Neurosci.* 99(2): 342-380.
- Spear, P.D. y T.P. Baumann. 1979. Neurophysiological mechanisms of recovery from visual cortex damage in cats: Properties of lateral suprasylvian visual area neurons following behavioral recovery. *Exp Brain Res.* 35: 177-192.
- Werka, T., J. Skar y H. Ursin. 1978. Exploration and avoidance in rats with lesions in amygdala and piriform cortex. *J Comp Physiol Psychol.* 92: 672-681.
- Zimmer, J., J. Lawrence y G. Raisman. 1982. A quantitative electron microscopic study of synaptic reorganization in the rat medial habenular nucleus after transection of the stria terminalis. *Neurosci.* 7: 1905-1928.

**A P E N D I C E**

# **AVERSION, AVOIDANCE, AND ANXIETY**

**Perspectives on Aversively  
Motivated Behavior**

**Edited by**  
**Trevor Archer**  
**Lars-Göran Nilsson**  
*University of Umeå*



1989

**LAWRENCE ERLBAUM ASSOCIATES, PUBLISHERS**  
Hillsdale, New Jersey

Hove and London

# 4 Learning of External and Visceral Cue Consequences May Be Subserved by Different Neuroanatomical Substrates

Federico Bermúdez-Rattoni, Marco Antonio Sánchez and Roberto A. Prado-Alcalá  
Universidad Nacional Autónoma de México

For animals, feeding behavior is the most important processes involved in the uptake of energy. In order to survive the animal must select nutrients and avoid toxins (Darwin, 1859/1985; Garcia, Rusiniak, Kiefer & Bermúdez-Rattoni, 1982). The ability for animals to recognize through odor and taste toxic components of plants, have produced influences in the evolution of both herbivorous and plants (Chapman & Blaney, 1979). A wide variety of animals to *associate* flavor with toxic effects apparently as a result of the coevolution of protective mechanisms on the host species and corresponding discrimination habits in feeding species (Garcia, Rusiniak & Brett, 1977). The same mechanism works to increase consumption as well. Many nutrients taste sweet and most feeders naturally prefer sweets. Many plants have taken advantage of this by evolving the dispersal mechanism of enclosing their indigestible seed in the sweet fruit; the feeder consumes the sweet fruits, absorbs the nutrient, but passes the seed far from the plant that bore it.

The selection of food resources and defense from depredation, that go along with the feeding chain, eventually produced adaptative pressures to the organisms (Rhoades, 1979; Sih, Crowley, Mc Peck, Petronka & Strohmeir, 1985). These pressures produce modifications of body structure and physiology, instinctive behavior and learning mechanisms that made it possible for organisms to become adapted to their environment (Garcia & Garcia Y. Robertson, 1985).

In this evolutionary regard, Garcia and coworkers have proposed *functional* dual mechanisms whereby animals cope with their defending

their gut against toxins and their skin against predators (see Bolles, 1985; García, Lasiter, Bermúdez-Rattoni & Deems, 1985). The existence of this dual learning mechanism is supported by work from different laboratories. Thus, taste is readily associated with illness producing the conditioned flavor aversions (CFA) after a single flavor-illness experience. Unlike most other demonstrations of classical conditioning, the delay between the taste and the illness can be an hour or more in the formation of a strong CFA. In contrast an audio-visual signal was a poor CS for illness conditioning, acquiring little or no aversive properties following a single toxic US. If footshock is used, the converse is true, the audio-visual signal was readily associated with the footshock US whereas taste was a poor CS in shock avoidance conditioning (García et al., 1982; 1985). This difference in conditioning has been termed cue-consequences specificity (García & Koelling, 1966; see Domjan, 1985).

In regard to the internal gut defense system, parametric research has shown that the temporal gradient for odor is steep; that is, odor must be followed immediately by poison to produce strong odor aversion learning. The temporal gradient for taste, on the other hand, is shallow; strong taste aversions may be conditioned even when poison administration is delayed several hours. When odor and taste are combined to produce a compound "flavor" CS, the conditionability of the odor component changes markedly, switching from the steep gradient characteristic of odor alone to the shallow gradient characteristic of taste alone. This effect was termed *potentiation* to reflect the fact that a previously weak odor cue became a strong associative cue simply by presenting it in conjunction with a taste (Rusiniak, Hankins, García, & Brett, 1979; Rusiniak, Palmerino, Rice, Forthman & García, 1982). This potentiation of odor by taste is a robust phenomenon, and it depends critically on close temporal contiguity between the odor and taste components in acquisition (Coburn, García, Kiefer & Rusiniak, 1984). Moreover, the aversion to flavors can be acquired even if the animal's cortical electroactivity is depressed by chemicals or if the animal is rendered flaccid and unresponsive by drugs (Bermúdez-Rattoni, Forthman-Quick, Sánchez, Pérez & García, submitted; Roll & Smith, 1972; Buresova & Bures, 1973). All this indicates that the visceral system operates below the level of awareness (Bermúdez-Rattoni et al., submitted; García, et al., 1985).

The potentiation of food-related cues is not limited to odor stimuli on rats. It has been shown in birds that the concomitant presentation of taste and color cues, when followed by illness, results in color aversions much stronger than if the color is conditioned alone (Brett, Hankins & García, 1976; Clark, Westbrook & Irwin, 1979). Recently, however, there has been some speculation that all external stimuli can be potentiated by taste in animals (Holder, Bermúdez-Rattoni & García, in press). Ellins, Cramer & Whitmore (1985) showed that a noise contingent on consumption could be associated with illness. However, Holder et al (1987) were not always able to find noise potentiated by taste aversions, when similar procedures used for potentiated odor aversion were employed, despite the fact that the noise used was an effective external cue for footshock. Close spatiotemporal contiguity of the noise source and the

flavored food is vital for noise potentiation (Ellins & von Kluge, in press). The complex polysynaptic routes of auditory and visceral pathways towards their ultimate convergence may account for the increased difficulty in developing noise-illness integration. In contrast, taste-illness is subserved by immediate convergence of gustatory and visceral pathways to the solitary nucleus. Additionally, it has been postulated that taste stimulation facilitates the integration of external stimuli with feeding responses by means of a sensory "and-gate" mechanism.

### THE NEURAL INTEGRATION OF ODOR AND TASTE AVERSIONS

We have been engaged in neurophysiological and neuropharmacological experiments in order to explore the neural mechanisms involved in the potentiation of odor by taste during toxiphobia conditioning. By means of a switching mechanism odor may be gated into the memory stores associated with the external defense system against peripheral insults such as a shock US. On the other hand, the same may be gated into the visceral (feeding) system where it can be potentiated by taste (Garcia et al., 1982; 1985). Assuming the anatomical existence of this neural "and-gate" switching odor into the feeding system, we have examined several regions of the central nervous system where odor-taste interactions might possibly occur.

One region hypothesized to be crucial for taste potentiation of odor stimuli was the gustatory neocortex. Stimulation of the pyriform cortex produces antidromic responses in the olfactory bulb (Allen, 1923) indicating that there are indeed, projections from the olfactory bulb to the pyriform cortex. From the pyriform cortex, there are also axonal projections directly to the agranular insular cortex and to the terminal projections field in the orbital frontal neocortex (OFN) of the rat (Haberly & Price, 1978). Lasiter and coworkers, based in studies using retrograde transport of horseradish peroxidase suggest that the primary gustatory neocortical projection field receives axonal projections from the pontine taste area (PTA) (Lasiter, Glanzman & Mensah, 1982). Ablations of this region disrupt taste-illness conditioning (Braun, Lasiter & Kiefer, 1982; Hankins, Garcia & Rusiniak, 1974). There is a close topographical relationship of the OFN and gustatory neocortex (Braun et al., 1982), as well as an abundant projection between the OFN and gustatory neocortex (GN) (Lasiter & Glanzman, 1982). This suggests that olfactory and gustatory information may converge, at least in part, to the GN and that this convergence contributes to the compound sensations described by humans as "flavors".

To determine the role of the cortex in potentiation, intact rats and rats lacking the dorsal region of the gustatory neocortex were given either a taste, an odor, or an odor-taste compound followed by intragastric administration of LiCl (Kiefer, Rusiniak & Garcia, 1982). On the first exposure to the stimuli, rats lacking gustatory neocortex failed to display

normal neophobia for the odor-taste compound. After two acquisition trials, the test trials with the odor and taste components revealed relatively specific effects of the lesions. Taste conditioning was severely disrupted. In contrast, the ablation did not appreciably affect taste potentiation of the odor aversion despite the fact that the operated rats trained with the odor-taste compound (OT) did not form any aversion to the taste; these rats displayed potentiated odor aversions relative to the odor-alone group. Apparently, integrity of the dorsal gustatory neocortex is necessary for the acquisition of a taste aversion but not for taste potentiation of an odor aversion. Lasiter, Deems & Garcia (1985) verified this finding and reported that lesions in the ventral insular region disrupted both taste aversions and potentiated odor aversions.

### THE INVOLVEMENT OF THE LIMBIC SYSTEM IN THE INTEGRATION OF ODOR POTENTIATED TASTE AVERSIONS

The amygdala is another likely site for the integration of odor with taste and toxicosis, as it receives both gustatory and olfactory afferents (Norgren, 1974; White, 1965). Neurons responding to both gustatory and visceral stimuli are found in the pontine taste area of the parabrachial complex (second gustatory relay); these neurons project also to the limbic system. Olfactory input reaches the amygdala from the accessory olfactory bulbar formation and olfactory cortex, thus the amygdala appears to receive all three modalities necessary for the mediation of taste-potentiated odor-illness conditioning. Accordingly, permanent lesions of the amygdala disrupt conditioned flavor aversions induced by a variety of unconditioned stimuli, such as amphetamine, lithium chloride, and x-rays (Grupp, Linseman & Coppel, 1976; McGowan, Hankins & Garcia, 1972; Elkins, 1980). Temporary amygdaloid lesions produced by disruptive electrical stimulation also impair apomorphine-induced flavor aversions (Kesner, Berman, Burton & Hankins, 1975). Furthermore, Buresova, Aleksanyan and Bures (1979) have shown that conditioned aversive flavors inhibit unit activity in the amygdala, as well as in the ventromedial hypothalamus and gustatory neocortex of the rat.

#### a) Acute Interference with Amygdala Function

We propose that the amygdala and other portions of the limbic system may perform the gating of odor by taste and that the local applications of selected drugs directly to relevant areas of the limbic system may be a reasonable research strategy. To test this proposition, we have been conducting a series of studies to examine the role of the amygdala in potentiation (Bermúdez-Rattoni, Chávez, Coburn & Garcia, 1983; Bermúdez-Rattoni, Grijalva, Kiefer & Garcia, 1986). In such experiments, rats are implanted with bilateral cannulae aimed at the

#### 4. LEARNING AND NEUROANATOMY 125

amygdala. To produce "reversible" amygdala lesions, infusions of procaine are made. Such infusions suppress normal electrophysiological activity for about 2 hours. In an initial experiment, four groups of rats were given a single exposure to an odor-taste (OT) compound. One group was a normal control, a second group was given procaine just prior to presentation of the compound OT, a third group was given procaine following OT exposure, and a fourth group received the procaine just before LiCl application. The administration of LiCl was given to all rats 30 minutes after exposure to the odor and taste. Following OT-illness, all groups displayed approximately equivalent taste aversions, reducing saccharin consumption. However, the group given procaine prior to the OT exposure (Pre-CS), displayed attenuated odor aversions. These data suggest that disruption of odor potentiation might have been produced by amygdaloid dysfunction just prior to the CS experience (Bermúdez-Rattoni, Rusiniak & Garcia, 1983).

The deficits in odor potentiation found with procaine-treated rats could be related to disruptions of the integration of odor and taste information. It is also possible that pre-CS infusion of procaine in the amygdala disrupts simple odor detection or odor-illness associations. To test if odor perception was affected by procaine treatment, three groups of rats (normal, procaine pre-CS, and handled control) were given a single exposure to almond odor while drinking familiar tap water. After a one-minute exposure the rats were given a footshock (1 mA, 1 sec). The results from the subsequent odor test indicated that all three groups showed significant suppression of consumption in the presence of the odor. These data indicate that procaine-treated rats were not anosmic, since they could develop normal associations between an odor and footshock, in fact the treated rats exhibited superior odor-shock performance.

A third experiment tested whether amygdala dysfunction produced by procaine infusion would disrupt direct odor-illness conditioning induced by immediate toxic injections. Control rats (both saline infused and handled) and rats given procaine prior to odor exposure, were conditioned with a single odor-illness trial using immediate administration of the poison so that direct odor-illness learning could be obtained. The results of the subsequent odor test indicated that pretreatment with procaine disrupted conditioning. These results suggest that the disruptions in potentiation of odor aversions described above can be attributed to a deficit in the formation of odor-illness associations, and that the amygdala dysfunctions may not have been related to odor-taste integration but rather to odor-illness associative learning. The effect was specific to toxiphobia conditioning because odor-shock learning was not affected by procaine treatment (Bermúdez et al., 1983).

#### **b) Chronic Interference with Amygdala Function**

In another series of experiments we have produced permanent lesions to find out which of the specific nuclei of the amygdaloid complex is more

involved in the gating of odor by taste in toxiphobic conditioning. In a first experiment we made relative large lesions since our procaine research indicated that large areas of the amygdala might be involved (McCowan et al., 1972; Grupp et al., 1976).

Therefore, rats were given extensive electrolytic lesions in the amygdala including lateral, dorsolateral, basal and medial nuclei of amygdala and one group received sham lesions. These groups of rats were divided into 3 subgroups: with odor, taste or the OT compound as CS's and all of them received LiCl 30 minutes later; the procedure was the same as described above. The results showed that the lesioned animals did not acquire either odor, taste or OT aversions as compared with those with the sham lesions. We concluded that the integrity of the amygdala is essential for odor and taste aversion learning. However, if the novocaine produces disruption only for odor but not for taste when applied to the amygdala it is possible that some of the nuclei are discretely involved rather than the whole amygdala (Bermúdez-Rattoni et al., 1986).

Therefore, in our second experiment we used smaller lesions directed at specific nuclei. The role of separate nuclei of the amygdalar complex was tested in the conditioning of aversions to the flavor compound and its odor-taste components. Rats were given small electrolytic lesions in the basal amygdala including the lateral and basolateral, medial nuclei, central amygdalar nucleus, or sham operations. Following postoperative recovery, each group received conditioning to an OT compound followed by delayed illness. Almond odor and saccharin were the CS's while the US was LiCl (i.p.). After conditioning, the tests with odor or taste alone showed that all groups presented strong taste and odor aversions, except the group which had sustained lateral amygdaloid lesions, which displayed a significant disruption of odor aversion learning (Bermúdez-Rattoni et al., 1986).

### **c) Cholinergic Activity of the Amygdala and Dorsal Hippocampus**

From these results, it seems that the neural integration of odor and taste during the conditioned flavor aversions may be mediated by neurochemical changes, since permanent lesions of the amygdala disrupt both odor and taste, but reversible alterations disrupt only the integration of odor aversions (Bermúdez-Rattoni et al., 1983). Therefore a series of experiments were made in order to find which of the neurotransmitters of the amygdala might be involved in the potentiation effect. Elsewhere, it has been shown that the amygdaloid complex and dorsal hippocampus are involved in memory functions and that the basomedial and basolateral nuclei of the amygdala seem to be the most important areas in these functions (McGaugh & Gold, 1977; Grossman, Grossman & Walsh, 1975). The basolateral nucleus of the amygdala has a high content of acetylcholine (ACh) (Woolf & Butcher, 1982), and it has been postulated that the cholinergic activity in the amygdala and hippocampus are highly involved in retention of learned tasks (Todd & Kesner, 1978). Thus, it is

likely that amygdalar cholinergic activity is involved in potentiation, i.e., the gating of odor into the visceral system.

Rats implanted with bilateral cannulae in the amygdala received physostigmine, scopolamine or saline infused over 3 min; almond odor and saccharin were the CS's and LiCl was the US. During acquisition the drugs were given 30 min before the presentation of odor and taste and were followed by delayed lithium illness. Then the animals were tested with odor or taste alone in separate tests days with water days in between. Results of the manipulations showed that when given prior to acquisition, physostigmine significantly decreased the odor aversion, while scopolamine produced a non-significant increase. Meanwhile taste aversions remained unaffected (Bermúdez-Rattoni et al., 1983). We concluded, therefore, that the cholinergic activity of the amygdala is involved in the potentiation effect.

Another limbic structure which has been given a role in memory processes for a long time is the hippocampus (O'Keefe & Nadel, 1978; Olton, Becker, Handelman, 1979; Thompson, 1983), which also has a high content of acetylcholine (Kuhar, 1975). Therefore we conducted experiments to determine if the hippocampal cholinergic activity has some involvement in the potentiation effect. The procedure was the same as in the studies described above. The results showed again that the physostigmine significantly reduced the odor aversions, but did not have any effect on taste aversions. On the contrary, the scopolamine significantly enhanced the odor aversions, but not the taste aversions (Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez & García, 1987).

#### INVOLVEMENT OF THE NEOSTRIATUM IN MEMORY OF EXTERNAL CUE CONSEQUENCES

It has been postulated that the neostriatum, or caudate-putamen (CP) is critically involved in memory processes when external cue-consequences are used. This is supported by the results of a great variety of experiments. It has been shown that acute or chronic interference with striatal functioning produced by electrolytic and mechanical lesions, or by local injections of anesthetics, potassium chloride or neurotoxins produce marked impairments in the consolidation and retrieval of instrumentally-learned associations (for reviews see Oberg & Divac, 1979 and Prado-Alcalá, 1985).

Further experimentation provides clues about possible neurochemical events within the CP, that may take place in the establishment of learning. For example, cholinergic blockade of the CP, induced shortly after training of passive avoidance, produces a state of retrograde amnesia (Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Haycock, Deadwyler, Sideroff & McGaugh, 1973; Prado-Alcalá, Fernández-Sambiancat & Solodkin-Herrera, 1985); this amnesic state is time-dependent since as the interval between training and intrastriatal injection of anticholinergic drugs is increased, the amnesic state is less evident or not evident at all

(Prado-Alcalá, Signoret-Edward & Figueroa, 1981). Interestingly, application of anticholinergic drugs to other brain structures (hippocampus and neocortex) only produce a mild impairment, or no impairment at all in passive avoidance responding (Haycock et al., 1973; Prado-Alcalá, Signoret-Edward, Figueroa, Giordano & Barrientos, 1984). Amnesia is also readily produced when atropine and scopolamine are injected into the CP of animals that have been trained in other instrumental tasks such as active avoidance (Neill & Grossman, 1970; Prado-Alcalá, 1985). Other lines of evidence converge to indicate that striatal cholinergic activity is involved in the learning of external cue-consequences. When the neurotoxin AF64A (a drug that produces a specific lesion of ACh-containing neurons) is injected into the CP, the treated animals are unable to show signs of learning of passive avoidance (Sandberg, Sanberg, Hanin, Fisher & Coyle, 1984).

If cholinergic blockade of the neostriatum is causally related to the amnesic states described above, then it would be expected that stimulation of acetylcholine receptors of that structure would produce an enhancement in retention and performance of instrumental tasks. Indeed, such is the case. There is a significant improvement in passive avoidance (Fernández, Solodkin & Prado-Alcalá, 1977) and active avoidance (Prado-Alcalá, Cepeda, Verduzco, Jiménez & Vargas-Ortega, 1984) after intrastriatal injections of choline, the ACh precursor. These series of experiments also lead to the prediction that training of an instrumental task should induce changes in ACh activity. Barker, Glick, Green & Khandelwal (1982) showed that shortly after training of passive avoidance there is a significant increase of ACh content in the striatum but not in other areas of the brain. Similarly, we have recently found a reliable increase in the formation of muscarinic receptors in the CP after training of that aversively-motivated task (unpublished observations).

Cholinergic activity of the striatum is mediated by intrinsic interneurons (Butcher & Butcher, 1974; McGeer, McGeer, Grewaal & Sing, 1975). They are functionally connected to afferent dopamine (DA) and, to efferent and to intrinsic GABA-containing neurons (Lehman & Langer, 1983). Hence, it should be expected that these neurons also contribute to the establishment of memory, since changes in their neurochemical activity bring about changes in the activity of ACh interneurons. Furthermore, important modifications in memory should be produced when an imbalance in the activity of the nigro-neostriatal system is produced by altering the activity of any of its components (ACh, DA or GABA neurons).

As predicted, intrastriatal injections of DA (Kim & Ruitenberg, 1976a), bicuculline and picrotoxin (Chávez-Martínez & Prado-Alcalá, 1986) or GABAergic blockade of the substantia nigra (SN) (Kim & Ruitenberg, 1976b) produce retrograde amnesia. Similar effects can be seen when the CP or the SN are electrically stimulated (Wyers & Deadwyler, 1971; Stabuli & Huston, 1978).

By far, the majority of studies germane to the involvement of the neostriatum or of any other brain structure in memory processes, have only looked upon the effects of manipulations of that structure on the

performance of relatively undertrained behaviors. As described above, the general picture that emerges from those studies is that normal activity of the CP is necessary for the consolidation of memory of instrumental tasks. During the last few years we have been systematically studying the involvement of different neural structures in overtrained learned behaviors. When animals are trained to press a positively-rewarded lever and are then injected into the CP with anticholinergic drugs or potassium chloride, they become amnesic. However, when the animals are overtrained (i.e., when the number of training sessions is increased severalfold) those treatments fail to produce memory impairments (Prado-Alcalá & Cobos-Zapián, 1977, 1979; Prado-Alcalá, Kaufmann & Moscona, 1980). Equivalent effects are obtained in the case of passive avoidance, where atropine (Giordano & Prado-Alcalá, 1986) and procaine (Pérez-Ruiz & Prado-Alcalá, 1986) are tested.

It thus seems that the CP is involved in the consolidation of relatively untrained behaviors, but not in the performance of overtrained responses. We have proposed that in overtraining memory functions are transferred from the CP to other neurochemical systems (Prado-Alcalá & Cobos Zapián, 1977). Along these lines, Miller (1981) has recently advanced the hypothesis that in overtraining the engrams for operant learning are switched from the striatum to the neocortex.

#### IS THE NEOSTRIATUM INVOLVED IN THE ACQUISITION OF TASTE AVERSION LEARNING?

From the present results, it is clear that the CP is involved in the acquisition of external cue-consequences learning. However, there are only a few experiments that attempted to demonstrate that the CP is directly involved in the acquisition of conditioned flavor aversions. Lasiter, Deems & Glanzman (1985) reported that the integrity of the projections from the ventroposterior medial nuclei of the thalamus to the anterior insular gustatory neocortex are necessary for the development of normal taste aversion learning. Lesions in the ventrolateral neostriatum produced disruption of CFA learning, therefore it was suggested that the destruction of striatum should disrupt CFA by eliminating normal path information between thalamus and the gustatory neocortex (Lasiter et al., 1985).

Recently a series of experiments were conducted in our laboratories to assess to what extent is the CP involved in the acquisition of both taste and odor aversions using similar procedures to those mentioned above for the limbic system experiments. In one experiment we gave procaine to three different cannulated groups. The cannulae were aimed at the dorsal or ventral neostriatum, or at the amygdala. The microinjections were made during the acquisition of an odor-taste compound followed by LiCl. The preliminary results of these experiments are shown in Figure 4.1, where the mean suppression of fluid consumption (calculated as a percentage of a

water baseline) is shown for extinction. Odor or taste alone were tested on different days. The group which received the procaine in the amygdala showed a taste aversion similar to the controls, but a disrupted odor aversion (near 100% of baseline). These results replicated the effects of disrupted odor aversion when the procaine was injected into the amygdala (Bermúdez-Rattoni et al., 1983). In contrast, we failed to find any disruptive effects when the procaine was applied to the dorsal or ventral neostriatum.

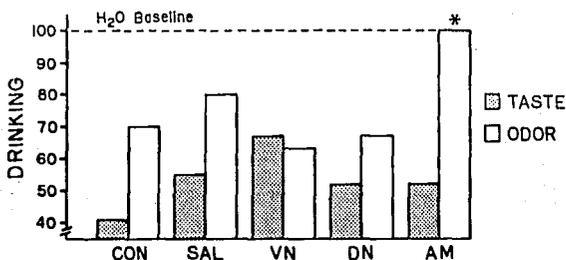


FIG. 4.1. Mean percent consumption by normal rats (CON) and rats that received saline (SAL), procaine into the ventral neostriatum (VN), dorsal neostriatum (DN) or into amygdala (AM). The procaine infusions only had effects in the amygdala group, where it disrupted odor aversions but not taste aversions. Note that both neostriatum groups develop normal odor and taste aversions (\* $p < 0.05$ ; U-Mann-Whitney relative to controls).

However, in this first experiment the aversions were not very reliable and therefore we decided to replicate this experiment with a different experimental approach. In the second experiment we made large electrolytic lesions intended to produce damage to the ventral or dorsal neostriatum or amygdaloid complex. As reported above, all of these lesions have effects in different tasks and programs (see Bermúdez-Rattoni et al., 1986; Prado-Alcalá, 1985). The procedure was similar to that described above except that we used two acquisition trials in order to insure strong aversion responses (Kiefer et al., 1982). Figure 4.2 shows the results of this experiment when odor or taste were tested on different days. As expected, the control groups showed a strong water intake suppression in the presence of odor or saccharin in the water. The amygdala lesion group showed, as expected, disrupted odor and taste aversions. In marked contrast, both the dorsal and ventral neostriatum lesioned groups showed a strong taste and odor aversion. These results indicate that acute or chronic functional interferences in the neostriatum have an insignificant effect upon acquisition of flavor conditioning

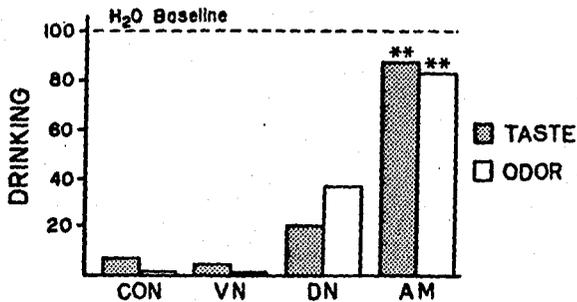


FIG. 4.2. Mean percent consumption by normal rats (CON) and rats with electrolytic lesions into the ventral neostriatum (VN), dorsal neostriatum (DN) and amygdala (AM) during test days. Note that lesions of amygdala significantly disrupted odor and taste aversions (\*\* $p < 0.001$ ; U-Mann-Whitney, relative to controls).

learning. Of course, more research with different approaches is needed to elucidate the role of the CP in the acquisition of flavor aversions. As pointed out by Lasiter et al., (1985) the destruction of the ventral lateral CP produces the disruption of CTA by affecting of the normal pathways between thalamus and gustatory neocortex. In summary, it seems that the CP does not participate directly as a memory store for learning of internal cue-consequences.

#### DISCUSSION

In the presence of taste, odor information appears to be selectively gated out of an external defense system and into the internal defense system. These findings prompted a great deal of research to find the neural mechanisms involved in the gating of odor by taste to the internal system. The anatomical localization of neurons performing gating and potentiating functions has been found in studies performing lesions of the gustatory neocortex (Kiefer et al., 1982; Lasiter et al., 1985). The magnitude of the disruption of taste and odor functions depends on the location of the lesion. As mentioned, lesions in the dorsal somatic region of the anterior insular gustatory neocortex disrupted taste aversions but spared taste potentiation of odor (Kiefer et al., 1982; Lasiter et al., 1985).

From the results presented here and elsewhere (Bermúdez-Rattoni et al., 1986; 1987) it is conceivable that the mechanism by which the odor is indexed into the visceral system is, at least in part, regulated by the limbic system. This idea is supported by the results described above (Bermúdez-Rattoni et al., 1983; 1986; 1987; Garcia et al., 1982; 1985). Thus, amygdala anesthesia produced greater disruption in potentiated odor aversions than in taste aversions. These deficits found with procaine-treated rats may be related to disruption of the integration of odor and taste information since amygdaloid anesthesia did not disrupt simple odor-shock or odor-illness associations.

Animals which sustained large amygdalar lesions were unable to acquire either odor, taste, and odor-taste aversions. These data derived from our large lesions along with data from other lesion studies, demonstrate that extensive damage to the amygdala can have devastating effects upon acquisition of both external and visceral cue consequences avoidance tasks (McGowan et al., 1972; Gurpp et al., 1976; Elkins, 1980; Bermúdez-Rattoni et al., 1986). However, small lesions of the lateral nuclei of amygdala or manipulations of cholinergic activity of the dorsal hippocampus produced disruption in the odor aversions but spared taste aversions (Bermúdez-Rattoni et al., 1986; 1987). These results support the idea that the limbic system is regulating the indexing of odor into the internal visceral cue consequences system.

The neostriatum does not seem to be actively involved in the potentiated odor by taste and odor aversions learning. As mentioned, its involvement is reduced to being a through-station for the fiber pathway between thalamus and gustatory neocortex (Lasiter et al., 1985). However, there is a clear functional involvement of the striatum in the acquisition and maintenance of tasks mediated by external cue consequences (Prado-Alcalá et al., 1985).

In summary, the functional classification of cue-consequence learning in terms of visceral and external systems may be correlated with different but defined structures of the central nervous system. Thus, it seems that the striatum as well as some parts of the limbic system, such as the amygdala, are involved in the learning processes maintained by external cue consequences. Moreover, the limbic system, particularly the basolateral amygdala nuclei, the dorsal hippocampus and the insular neocortex are involved in the odor indexing into the visceral cue-consequences system. And finally, the dorsal somatic region of gustatory neocortex is importantly involved in the acquisition of the taste component in the flavor aversion conditioning.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the following grant: CONACyT PCSABNA-022045 to FB-R, and by Fundacion Miguel Aleman, A. C. We thank L. Salcedo, M. Escobar, B. Corte and S. Alvarez for technical assistance and/or advice given during this study.

## REFERENCES

- Allen, W. F. (1923). Origin and distribution of the tractus solitarius in the guinea pig. *Journal of Comparative Neurology*, *35*, 171-204.
- Barker, L. A., Glick, S. D., Green, J. P., & Khandelwal, J. (1982). Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one-trial passive training. *Neuropharmacology*, *21*, 183-185.
- Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C. V., Kiefer, S. W., & Garcia, J. (1986). Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversion. *Physiology and Behavior*, *38*, 503-508.
- Bermúdez-Rattoni, F., Chávez, A. F., Coburn, K., & Garcia, J. (1983). The role of the amygdala cholinergic activity in taste potentiated odor aversion learning. *Society for Neuroscience Abstracts*, *9*, 827.
- Bermúdez-Rattoni, F., Coburn, K. L., Fernández, J., Chávez, A. F., & Garcia, J. (1987). Potentiation of odor by taste and odor aversion in rats are regulated by cholinergic activity of dorsal hippocampus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *26*, 553-559.
- Bermúdez-Rattoni, F., Rusiniak, K. W., & Garcia, J. (1983). Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. *Behavioral Biology*, *37*, 61-75.
- Bermúdez-Rattoni, F., Forthman Quick, D. L., Sánchez, M. A., Pérez, J., & Garcia, J. (submitted). Odor and taste aversions conditioned in anesthetized rats.
- Bolles, R. (1985). Introduction: Associative processes in the formation of conditioned food aversions - An emerging functionalism? In: Braveman, N.S. & Bronstein, P. (Eds.), *Experimental Assessment and Clinical Applications of Conditioned Food Aversions*. *Annals of New York Academy of Science*, *443*, 1-7.
- Braun, J. J., Lasiter, P. S., Kiefer, S. W. (1982). The gustatory neocortex of the rat. *Physiological Psychology*, *10*, 13-45.
- Brett, L. P., Hankins, W. G., & Garcia, J. (1976). Prey-lithium aversions. III. Butea Hawks. *Behavioral Biology*, *17*, 87-98.
- Buresova, O., & Bures, J. (1973). Cortical and subcortical components of the conditioned saccharin aversion. *Physiology and Behavior*, *11*, 435-439.
- Buresova, O., Aleksanyan, Z. A., & Bures, J. (1979). Electrophysiological analysis of retrieval of conditioned taste aversions in rats: Unit activity changes in critical brain regions. *Physiology Bohemoslov*, *28*, 525-539.
- Butcher, S. G., & Butcher, L. L. (1974). Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Research*, *71*, 167-171.
- Chapman, R. F., & Blaney, W. M. (1979). How animal perceive secondary compounds. In G. A. Rosenthal & D. H. Jenzen

- (Eds.), *Herbivores their interaction with secondary plant metabolites*, pp. 161-198. Academic Press, New York.
- Chávez-Martínez, M. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Amnesia retrógrada producida por la aplicación de picrotoxina en el cuerpo estriado. X Congreso Nacional de Farmacología, Taxco, México.
- Clarke, J. C., Westbrook, R. F., & Irwin, J. (1979). Potentiation instead of overshadowing in the pigeon. *Behavioral and Neural Biology*, 25, 18-29.
- Coburn, K. L., Garcia, J., Kiefer, S. W., & Rusiniak, K. W. (1984). Taste potentiation of poisoned odor by temporal contiguity. *Behavioral Neuroscience*, 98, 813-819.
- Darwin, C. (1859/1985). El origen de las especies. Original title: On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. Sarpe. México. Vol. 10.
- Domjan, M. (1985). Long-delay learning revisited. *Annals of New York Academy of Science*, 443, 54-66.
- Elkins, R. L. (1980). Attenuation of x-ray induced taste aversion by the olfactory bulb or amygdaloid lesion. *Physiology and Behavior*, 24, 515-521.
- Ellins, S. R., Cramer, R. E., & Whitmore, C. (1985). Taste potentiation of auditory aversion in rat: A case for spatial contiguity. *Journal of Comparative Psychology*, 99, 102-111.
- Ellins, S. R., & von Kluge, S. Extinction, spontaneous recovery and preexposure effects of taste-potentiated lithium chloride induced auditory food aversions in rats. *Behavioral and Neural Biology*, (in press).
- Fernández, S. M., Solodkin, M. H., & Prado-Alcalá, R. A. (1977). Blockade and activation of caudate cholinergic activity. *Society for Neurosciences Abstracts*, 3, 232.
- García, J., Lasiter, P. S., Bermúdez-Rattoni, F., & Deems, D. A. (1985). A general theory of aversions learning. In: Experimental assessments and clinical applications of conditioned food aversions. N.S. Braveman & P. Bronstein (Eds.), *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443, 8-21.
- García, J., & Koelling, R. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4, 123-124.
- García, J., & García Y. Robertson. (1984). The evolution of learning mechanisms. Master lectures. American Psychological Association. USA. pp. 191-243.
- García, J., Rusiniak, K. W., & Brett, L. P. (1977). Conditioning food-illness aversions in wild animal: caveant canonici. In H. David & H. M. B. Hurwitz (Eds.), *Operant pavlovian interactions*, pp. 273-316. Hillsdale, N.J.: Lawrence Erlbaum Associates.
- García, J., Rusiniak, K. W., Kiefer, S. W., & Bermúdez-Rattoni, F. (1982). The neural integration of feeding and drinking habits. In C. D. Woody (Ed.), *Conditioning: representation of involved neural functions*, pp. 567-579. New York: Plenum Press.
- Giordano, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen.

Gr

Gr

Hi

Hi

Hi

Hi

K

K

K

K

K

L

L

L

L

- protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24, 905-909.
- Grossman, S. P., Grossman, L., & Walsh, L. (1975). Organization of the rat amygdala with respect to avoidance behavior. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, 88, 829-850.
- Grupp, L. P., Linseman, M. A., & Coppel, H. (1976). Effects of amygdala lesions of taste aversion produced by amphetamine and LiCl. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 4, 541-546.
- Haberly, L. B., & Price, J. L. (1978). Association and commissural fiber systems of the areas. *Journal of Comparative Neurology*, 178, 711-740.
- Hankins, W. G., Garcia, J., & Rusiniak, K. W. (1974). Cortical lesions: Flavor-illness and noise-shock conditioning. *Behavioral Biology*, 10, 173-181.
- Haycock, J. W., Deadwyler, S. A., Sideroff, S. I., & McLaugh, J. L. (1973). Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Experimental Neurology*, 41, 201-213.
- Holder, M. D., Bermúdez-Rattoni, F., & Garcia, J. (1987). Taste potentiated noise-illness association. *Behavioral Neuroscience* (in press).
- Kesner, R. P., Berman, R. F., Bourton, B., & Hankins, W. G. (1975). of electrical stimulation of amygdala upon neophobia on taste aversion. *Behavioral Biology*, 13, 349-358.
- Kiefer, S. W., Rusiniak, K. W., & Garcia, J. (1982). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste in rats with gustatory neocortical ablation. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, 96, 540-548.
- Kim, H. J., & Routtenberg, A. (1976a). Retention deficits following post-trial dopamine injection in rat neostriatum. *Society for Neurosciences Abstracts*, 21, 631.
- Kim, H. J., & Routtenberg, A. (1976b). Retention disruption following post-trial picrotoxin injection into the substantia nigra. *Brain Research*, 113, 620-625.
- Kuhar, M. J. (1975). Cholinergic neurons: septal-hippocampal relationships. In R. L. Isaacson & K. H. Pribram (Eds.), *The Hippocampus*, pp. 269-283. New York: Plenum Press.
- Lasiter, P. S., Glanzman, D. L., & Mensah, P. A. (1982). Direct connectivity between pontine taste areas and gustatory neocortex in rat. *Brain Research*, 234, 111-121.
- Lasiter, P. S., & Glanzman, D. L. (1982). Cortical substrates of taste aversion learning: Dorsal prepiriform (insular) lesions disrupt taste aversion learning. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96, 376-392.
- Lasiter, P. S., Deems, D. A., & Garcia, J. (1985). Involvement of the anterior insular gustatory neocortex in taste-potentiated odor aversion learning. *Physiology, Psychology and Behavior*, 34, 71-77.
- Lasiter, P. S., Deems, D., & Glanzman, D. L. (1985). Thalamocortical relations in taste aversion learning: I. Involvement of

- gustatory thalamocortical projections in taste aversion learning. *Behavioral Neuroscience*, 99(3), 454-476.
- Lehmann, J., & Langer, Z. (1983). The striatal cholinergic interneuron: synaptic target of dopaminergic terminals? *Neuroscience*, 10, 1105-1120.
- McGaugh, J. L., & Gold, P. E. (1977). Modulation of memory by electrical stimulation of the brain. In M. R. Rosenzweig & E. Bennet (Eds.), *Neural Mechanisms of Learning and Memory*, pp. 549-560. Massachusetts: MIT Press.
- McGeer, E. G., McGeer, P. L., Grewaal, D. S., & Sing, V. K. (1975). Striatal cholinergic interneurons and their relation to dopaminergic nerve endings. *Journal of Pharmacology, Paris*, 6, 143-152.
- McGowan, B., Hankins, W. G., & Garcia, J. (1972). Limbic lesions and control of the internal and external environment. *Behavioral Biology*, 7, 841-852.
- Miller, M. (1981). *Meaning and Purpose in the Intact Brain*. Oxford University Press.
- Neill, D. B., & Grossman, P. S. (1970). Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of dorsal and ventral caudate of rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 71, 311-317.
- Norgren, R. (1974). Gustatory afferents to ventral forebrain. *Brain Research*, 81, 285.
- Oberg, R. G. E., & Divac, I. (1979). "Cognitive" functions of the Neostriatum. In I. Divac & R. G. E. Oberg (Eds.), *The Neostriatum*, pp. 291-313. Oxford: Pergamon Press.
- O'Keefe, J., & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. New York: Oxford University Press.
- Olton, D. D., Becker, J. T., & Handelman, G. E. (1979). Hippocampus space and memory. *Behavioral Brain Science*, 2, 313-365.
- Pérez-Ruiz, C., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Differential effects of Lidocaine injections into the striatum on short- and long-term retention of passive avoidance in overtrained rats. Presented at the 16th Annual Meeting Society for Neuroscience, Washington, E.U.A.
- Prado-Alcalá, R. A. (1985). Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Science*, 37, 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R. A., Bermúdez-Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D., & Bacha, M. G. (1978). Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining-induced protection against behavioral deficits. *Life Science*, 23, 889-896.
- Prado-Alcalá, R. A., & Cepeda, G., Verduzco, L., Jiménez, A., & Vargas-Ortega, E. (1984). Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. *Neuroscience Letters*, 51, 31-36.
- Prado-Alcalá, R. A., & Cobos-Zapain, G. G. (1977). Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Research*, 138, 190-196.
- Prado-Alcalá, R. A., & Cobos-Zapain, G. G. (1979). Interference

- with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a "moving" engram. *Brain Research*, 172, 577-583.
- Prado-Alcalá, R. A., Fernández-Samblancat, M., & Solodkin-Herrera, M. (1985). Injections of atropine into the caudate nucleus impair the acquisition and the maintenance of passive avoidance. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22, 243-247.
- Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P., & Moscona, R. (1980). Scopolamine and KCl injections into the caudate-putamen. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 12, 249-253.
- Prado-Alcalá, R. A., Signoret-Edward, L., & Figueroa, M. (1981). Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 15, 633-636.
- Prado-Alcalá, R. A., Signoret-Edward, L., Figueroa, M., Giordano, M., & Barrientos, M. A. (1984). Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term, but not with short-term retention of passive avoidance. *Behavioral and Neural Biology*, 42, 81-84.
- Rhoades, D. F. (1979). Evolution of plant chemical defense against herbivores. In G.A. Rosenthal & D. H. Jensen (Eds.), *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*, pp. 4-54. New York: Academic Press, Inc.
- Roll, D. L., & Smith, J. C. (1972). Conditioned taste aversion in anesthetized rats. In M. E. P. Seligman & J. L. Hager (Eds.), *Biological boundaries of learning*, pp. 98-102. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Rusiniak, K. W., Hankins, W. G., Garcia, J., & Brett, L. P. (1979). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 25, 1-17.
- Rusiniak, K. W., Palmerino, C. C., Rice, A. G., Forthman, D. L., & Garcia, J. (1982). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste with toxin but not shock in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96, 527-539.
- Sandberg, K., Sanberg, P. R., Hanin, I., Fisher, A., & Coyle, T. (1984). Cholinergic lesion of striatum impairs acquisition and retention of a passive avoidance response. *Behavioral Neuroscience*, 98, 162-165.
- Sih, A., Crowley, P., McPeck, M., Petronka, J., & Strohmeir, K. (1985). Predation, competition and prey communities: A review of field experiments. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 269-311.
- Stabuli, U., & Huston, J. P. (1978). Effects of post-trial reinforcing vs subreinforcing stimulation of the substantia nigra on passive avoidance learning. *Brain Research Bulletin*, 3, 519-524.
- Todd, J. W., & Kesner, R. P. (1978). Effects of posttraining injections of cholinergic agonist and antagonist into the amygdala on retention of passive avoidance in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 2, 958-968.

- Thompson, R. (1983). Brain systems and long-term memory. *Behavioral and Neural Biology*, 37, 1-45.
- White, L. (1965). Olfactory bulb projections of the rat. *Anatomical Record*, 152, 465.
- Woolf, N. J., & Butcher, L. L. (1982). Cholinergic projections to the basolateral amygdala: A combined Evans Blue and acetylcholinesterase analysis. *Brain Research Bulletin*, 8, 751-763.
- Wyers, E. J., & Deadwyler, S. A. (1971). Duration and nature of retrograde amnesia produced by stimulation of caudate nucleus. *Physiology and Behavior*, 6, 97-103.

## Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning

Federico Bermúdez-Rattoni, Juan Fernández, Marco Antonio Sánchez,  
Raúl Aguilar-Roblero and René Drucker-Colín

*Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (Mexico)*

(Accepted 7 April 1987)

**Key words:** Conditioned taste aversion; Fetal neural transplant; Grafting; Gustatory neocortex; Amygdala

Rats showing disrupted taste aversion due to gustatory neocortex or amygdala lesions were transplanted into the lesioned area with homologous brain tissue obtained from 17-day-old fetuses. Comparisons of taste aversion scores before and after the graft, revealed that the grafted animals significantly recuperated taste aversions, whereas cortical lesioned animals without grafts did not. Surprisingly, however, amygdala-lesioned animals without graft presented spontaneous recovery. These results not only support the hypothesis that fetal brain transplants can restore cognitive functions, but also that there are some fundamental functional differences between the gustatory neocortex and the amygdala in the regulation of the processes involved in the acquisition and retention of taste aversion.

The recovery from brain injury has recently been studied using the technique of transplanting fetal neuronal tissue into the brains of neonatal as well as adult recipients<sup>5,6</sup>. Thus, it has been shown that transplanted neurons differentiate and make connections with the host brain<sup>11,29</sup>. In addition, there are some studies that have been able to show biochemical and functional changes due to such transplants<sup>4,8,13,21</sup>. Up until recently, some studies have shown cognitive function recuperation<sup>6,9,17</sup>. Mainly these studies have reported partial recovery of a maze-learning task in rats with fornix-fimbria lesions, or with large frontal cortical ablations<sup>10,17,20</sup>.

One model that has been widely used in the study of learning processes is the conditioned taste aversion (CTA)<sup>12</sup>. Usually in this paradigm, normal rats acquire aversions to a conditioned stimulus (CS), in this case, a positive taste cue, viz. a saccharin solution, when it is followed by an induced illness, e.g. lithium chloride, as an unconditioned stimulus (US). As a result, when the saccharin solution is presented again, animals decrease their water consumption. In contrast with other learning models, the neural path-

ways for CTAs have been more accurately established<sup>12,15</sup>. Thus, two important areas that appear to mediate CTA are the gustatory neocortex (GN) and the amygdala (AM). The involvement of these areas in CTA learning has been demonstrated by the observation that lesion of GN and AM disrupts both acquisition and retention of the learned taste aversion response<sup>1,2,7,18,19</sup>.

The studies to be described below attempt to provide evidence that fetal transplants can induce recuperation of the CTA response in cortex- and amygdaloid-lesioned rats. Forty-three male Wistar rats weighing between 250 and 300 g were used in this study. Under pentobarbital anesthesia (50 mg/kg) 36 animals were subjected to stereotaxic surgery according to the following groups: (1) bilateral lesion of the gustatory neocortex; coordinates: AP 1.2, L 5.5, H -5 ( $n = 18$ ); (2) bilateral lesion of the amygdaloid complex; coordinates AP -2.5, L 5, H -8 ( $n = 18$ ). All lesions were made by passing a 1 mA anodal current for 60 s through a monopolar stainless steel electrode; (3) a third group ( $n = 7$ ) sustained no lesion and served as controls (CON). Following postopera-

tive recovery (8 days) all animals were water deprived for 24 h, and trained to drink water during 5 min trials for 10 days, in order to determine the consumption baseline. Usually after 7 days the baseline becomes very stable. Consumption volume was recorded each day. On day 11, the taste aversion training and the testing trials were initiated. The former consisted of presenting a 0.1% saccharin solution, followed 30 min later by intragastric LiCl (190 mg/kg) as the US. On days 12, 13, 15 and 16 baseline water consumption was recorded again. On the intervening day 14 and on day 17 the saccharin solution was presented again in order to test the extinction of CTA. The saccharin consumption volume was taken as the taste aversion score.

Two days after the second extinction trial, the 36 lesioned animals were randomly divided into 4 groups of 9 animals each. Nine of the GN-lesioned rats were grafted with fetal GN (GGN), 9 amygdala-lesioned rats were grafted with fetal AM (GAM), whereas the other 9 GN-lesioned rats (L×GN) and 9 AM (L×AM) lesioned rats remained as controls to determine the effects of the lesion only. Tissue grafts were made as follows. Seventeen-day-old fetuses were removed from the abdominal cavity of pregnant rats under anesthesia. The brain was extracted and under a microscope, the temporoparietal area (above the rhinal sulcus) was dissected to obtain the fetal GN, while the temporal lobe was dissected to obtain the fetal amygdala. Solid blocks of tissue about 3 mm<sup>3</sup> were then stereotaxically placed with the aid of a Hamilton microsyringe (100 μl) into the area with stereotaxic coordinates identical to those used in making the lesions described above.

After 8 weeks of recovery, the 5 groups (CON, GGN, GAM, L×GN and L×AM) were reinstated into the same behavioral procedure described above. However, one additional acquisition trial was given to all groups. During recovery time, 2 animals from the GGN group, 2 from the GAM group and one from the CON group became ill. Data obtained from these animals were eliminated from further analysis.

At the end of the experiment all animals were sacrificed and perfused with 10% formalin, their brains excised and coronal sections (10 μm thick) were made and stained by the Kluver-Barrera method in order to determine lesion and transplant characteristics.

Close histological examination revealed that lesions of the GN destroyed the granular and agranular insular cortices (areas 14 and 13; Krieg's areas<sup>16</sup>), as well as ventral portions of the somatosensory neocortex. The extent of the lesion was on average 1.2 mm in the dorsoventral plane and 2 mm in the rostrocaudal plane. The GN lesions involved the primary gustatory neocortical projection area<sup>18</sup>. For the L×AM group, in general, the lesions were teardrop-shaped with a diameter of 1–1.5 mm. In some cases slight extramygdala damage occurred involving the internal capsule (for more histological description, see ref. 2). Surviving grafts were found in 6 out of 7 animals in each of the transplanted groups. These transplants were found to be bilaterally located in 4 cortical and 5 amygdala animals, while unilateral transplants were found in the 2 remaining GGN animals and in 1 GAM animal. The brain transplants appeared to be healthy and placed in the appropriate target area of the host brain (see Fig. 1). Preliminary results in our laboratory, using retrograde tracing experiments with horseradish peroxidase (HRP), showed that injections in the cortical and amygdaloid transplants produced retrograde neuronal labeling in the VPM nucleus of the thalamus and in the gustatory neocortex, respectively, thus suggesting the establishment of connections between graft and host<sup>18,19</sup>. Individual inspection of the saccharin consumption scores of the animals with the bilateral or unilateral transplants were not particularly different, indicating that a unilateral transplant is enough to produce behavioral recovery.

Fig. 2 summarizes the results of CTA conditioning pre- and postgrafting for all groups. Simple ANOVA was done on percentages from previous day baseline volume for each group, with post hoc group comparisons where appropriate using Dunnett test (two tailed

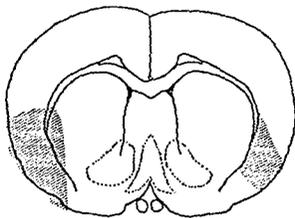
Fig. 1. A, B and C, F show representative coronal sections of cortical and amygdala grafts respectively. D is a magnification of the square in C, E is a magnification of the square in D, and G is a magnification of the square in F. Arrows indicate the borders of the graft with the host tissue. Compare transplanted neurons (in E, right) within host neurons on left tissue. A, B, C and F,  $\times 2.3$ ; D and G,  $\times 5.8$ ; E,  $\times 14.5$ . The drawings are schematic representations of coronal sections at the level of the grafts. The latter are shown in the stippled area.

**A**

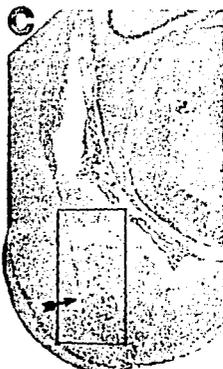


**GN GRAFTS**

**B**

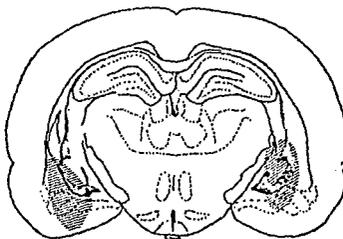
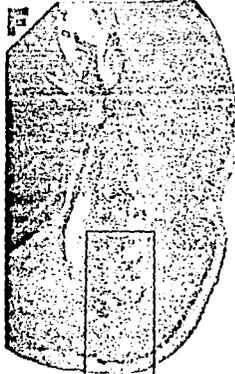


**C**

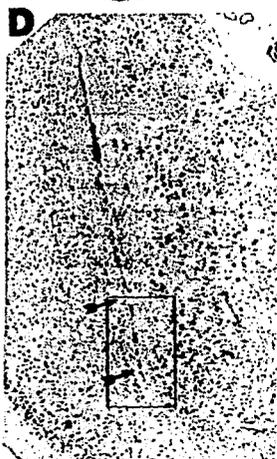


**AM GRAFTS**

**D**



**D**



**E**



**G**



test of significance<sup>14</sup>). During the pregraft acquisition trial, there were no significant differences among the groups ( $F_{4,35} = 2.04$ ,  $P < 0.10$ ). In the first taste trial the CON group showed strong taste aversion, ( $F_{4,35} = 12.70$ ,  $P < 0.01$ ). As expected, the cortex- and amygdala-lesioned groups did not show any taste aversion and all were significantly different from the control group ( $P$  values  $< 0.01$ ). During the second extinction trial, (not shown in Fig. 2) there were no significant differences among groups, thus indicating that taste aversion was extinguished in the control group. The postgraft ANOVA comparisons revealed (Fig. 2, right) that there were significant differences among the groups during the first, and second acquisition trials as well as in the last taste trial ( $F_{4,35} = 4.60$ ;  $F_{4,35} = 5.12$  and  $F_{4,35} = 6.10$ ;  $P$  values  $< 0.01$ , respectively). Inspection of Fig. 2 (right) revealed that after grafting, the GGN and GAM groups recuperated the taste aversions, and they were not significantly different from the CON group across the 3 saccharin days. On the other hand, when the LxGN group was tested after 8 weeks, it still showed a significant disruption of CTA during the 3 days ( $P$  values  $< 0.01$ ). Surprisingly, animals with amygdaloid lesions (LxAM) showed spontaneous recovery of taste aversion, since they were not significantly different from the control group.

Additional paired  $t$ -tests were done to compare differences in saccharin consumption of each group pre and postgrafting in the last pre- and post-taste trials (see Fig. 2). The grafted groups (GGN, GAM) significantly decreased the saccharin consumption after the transplant when compared with their own pre-transplant consumption ( $P$  values  $< 0.05$ ). However, the group that sustained large cortical lesions (LxGN) did not recuperate the taste aversion. Conversely, this group showed an enhancement of saccharin consumption (see Fig. 2). Finally, the LxAM group showed a reliable decrement of saccharin consumption when compared with its own pregraft aversion score ( $P < 0.05$ ).

The results obtained in these experiments, show that electrolytic lesions of the GN and AM produce clear disruptions of CTAs, confirming previous observations<sup>1,2,12,15,18,19</sup>. In addition, the results show that cortical fetal transplants produce a significant recuperation of such disruptions. The possibility of spontaneous recovery can be excluded because it was

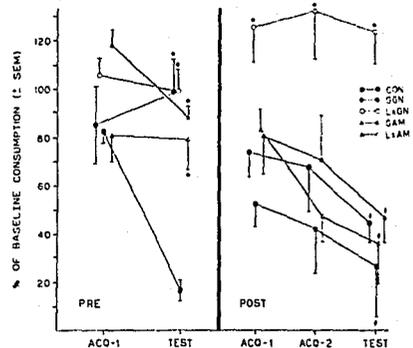


Fig. 2. The graph illustrates the amount of saccharin consumed by control, lesioned and grafted groups. Consumption is expressed as the percentage of each group's previous day water baseline. Left side shows the results from one acquisition trial and one taste test trial prior to transplant. Right side shows the results of two acquisition and one taste test trial eight weeks after transplant. \* $P < 0.01$  (Dunnett test). #  $P < 0.05$  (paired  $t$ -test). For further explanation, see text.

shown that the GN-lesioned group without transplant significantly enhanced consumption of the saccharin solution. On the other hand, both the grafted and non-grafted amygdala groups recovered the previously lost taste aversion. These results were rather surprising. However, it should be noted that to this date all observations on the effects of amygdala lesions await short periods of time to test the disruption of CTAs, thus excluding the possibility of observing spontaneous recovery. There are several alternatives which could explain such recovery. Sprouting occurred after the lesion<sup>3,26</sup>. However, contradictory results have been found in relation to recovery by axonal sprouting. Loesche and Stewart<sup>20</sup> reported that unilateral lesions made into the entorhinal cortex produced significant deficits in alternation behavior, but that the time course of behavioral recovery correlated with the time course of hippocampal sprouting originating from cells of the contralateral intact entorhinal cortex<sup>20</sup>. On the other hand, spontaneous recovery of spatial alternation deficit was found after bilateral entorhinal cortex lesion without sprouting<sup>27</sup>.

Another plausible explanation is that our amygdala lesion produced reorganization of other elements in the neuronal network<sup>22,28</sup>. In this regard, it

has been shown that functional alterations of the neostriatum produces disruption of different learned tasks. However, if the animals are overtrained, similar functional alterations do not produce disruption of the same learned tasks<sup>24,25</sup>. The authors concluded that after the overtraining, the encoding necessary for the performance could be transferred to another neuroanatomical or neurochemical system<sup>23,25</sup>. In our experimental conditions, overtraining could have been produced by repeated acquisition of taste aversion trials. Therefore, a plausible explanation for the differential effects between the cortical and amygdala lesions, is that for taste aversion learning the GN is a permanent memory store, whereas the amygdala only intervenes as an initial step storage for CTA. Studies designed to test this possibility are currently

being undertaken in our laboratory.

In summary, these experiments give further support to the hypothesis that fetal brain transplants can restore functional losses of behavior in lesioned adult animals, including cognitive functions. Additionally, the longer time course involved in studying CTA with the transplant technique, allowed for the observation that there is a fundamental functional difference between GN and AM in the regulation of the processes involved in the acquisition and retention of taste aversion.

This research was supported by Grant PCSABNA-022045 from CONACyT to F. B.-R. We thank Mrs. María Teresa Torres for preparing the manuscript.

- 1 Aggleton, J.P., Petrides, M. and Iversen, S.D., Differential effects of amygdala lesions on conditioned taste aversion learning in rats, *Physiol. Behav.*, 27 (1981) 397-400.
- 2 Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W. and García, J., Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions, *Physiol. Behav.*, 38 (1986) 503-508.
- 3 Bernstein, J.J. and Bernstein, M.E., Axonal regeneration and formation of synapses proximal to the site of lesion following hemisection of the rat spinal cord, *Exp. Neurol.*, 30 (1971) 336-351.
- 4 Björklund, A. and Stenevi, U., Reformation of the severed septo-hippocampal cholinergic pathway in the adult rat by transplanted septal neurons, *Cell. Tissue Res.*, 185 (1977) 282-302.
- 5 Björklund, A. and Stenevi, U., Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway intracerebral nigral transplants, *Brain Research*, 177 (1979) 555-560.
- 6 Björklund, A. and Stenevi, U., *Neural Grafting in the Mammalian CNS*. Elsevier, Amsterdam, 1985.
- 7 Brown, J.J., Lasiter, P.S. and Kiefer, S.W., The gustatory neocortex of the rat, *Physiol. Psychol.*, 10 (1982) 13-45.
- 8 Drucker-Colín, R., Aguilar-Roblero, R., García-Hernández, F., Fernández-Cancino, F. and Bermúdez-Rattoni, F., Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats, *Brain Research*, 311 (1984) 353-357.
- 9 Dunnett, S.B., Björklund, A., Stenevi, U. and Iversen, S.D., Grafts of embryonic substantia nigra reinnervating the ventrolateral striatum ameliorate sensorimotor impairment and akinesia in rats, *Brain Research*, 229 (1981) 209-217.
- 10 Dunnett, S.B., Low, W.C., Iversen, S.D., Stenevi, U. and Björklund, A., Septal transplants restore maze learning in rats with fornix-fimbria lesions, *Brain Research*, 251 (1982) 335-348.
- 11 Frotscher, M. and Zimmer, J., Intracerebral transplants of the rat fascia dentata: a Golgi/electron microscope study of dentate granule cells, *J. Comp. Neurol.*, 246 (1986) 181-190.
- 12 García, J., Lasiter, P.S., Bermúdez-Rattoni, F. and Deems, D., A general theory of aversion learning, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443 (1985) 8-20.
- 13 Kelly, P.A.T., Gage, F.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U. and Björklund, A., Functional reactivation of differential hippocampus by embryonic septal grafts as assessed by measurements of local glucose utilization, *Exp. Brain Res.*, 58 (1985) 570-579.
- 14 Keppel, G., *Design and Analysis: A Researcher's Handbook*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1973.
- 15 Kiefer, S.W., Neural mediation of conditioned food aversions, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443 (1985) 100-109.
- 16 Krieg, W.J.S., Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A topography of the cortical areas. B. Structure of the cortical area, *J. Comp. Neurol.*, 84 (1946) 221-323.
- 17 Labbe, R., Firt, A., Mutson, E.J. and Stein, O.G., Fetal brain transplants reduction of cognitive deficit in rats with frontal cortex lesions, *Science*, 221 (1983) 470-472.
- 18 Lasiter, P.S. and Glanzman, D.L., Cortical substrates of taste aversion learning: involvement of the dorsolateral amygdala nuclei and temporal neocortex in taste aversion learning, *Behav. Neurosci.*, 99 (1985) 257-276.
- 19 Lasiter, P.S., Deems, D.A. and Glanzman, O.L., Thalamocortical relations in taste aversion learning. I. Involvement of gustatory thalamocortical projection in taste aversion learning, *Behav. Neurosci.*, 99 (1985) 454-476.
- 20 Loesche, J. and Stewart, O., Behavioural correlates of denervation and reinnervation of the hippocampal formation of the rat: recovery of alternation performance following unilateral entorhinal cortex lesions, *Brain. Res. Bull.*, 2 (1977) 31-39.
- 21 Low, W.C., Lewis, P.R., Bunch, S.T., Dunnett, S.B., Thomas, S.R., Iversen, S.D., Björklund, A. and Stenevi, U., Functional recovery following transplantation of embryonic septal nuclei into adult rats with septo-hippocampal lesions: the recovery of function, *Nature (London)*, 300 (1982) 260-262.

- 22 Lynch, G., Matthews, D.A., Mosko, S., Parks, T. and Cotman, C., Induced acetylcholinesterase-rich layer in rat dentate gyrus following entorhinal lesions, *Brain Research*, 42 (1972) 311-318.
- 23 Miller, R., *Meaning and Purpose in the Intact Brain*, University Press, Oxford, 1981.
- 24 Prado-Alcalá, R.A., Bermúdez-Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D. and Bacha, G.M., Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining-induced protection against behavioural deficit, *Life Sci.*, 23 (1978) 889-896.
- 25 Prado-Alcalá, R.A. and Cobos-Zapahn, G., Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a moving engram, *Brain Research*, 172 (1979) 577-583.
- 26 Raisman, G., Neuronal plasticity in the septal nuclei of the adult rat, *Brain Research*, 14 (1969) 25-48.
- 27 Ramírez, J.J. and Stein, D.G., Sparing and recovery of spatial alternation performance after entorhinal cortex lesions in rats, *Behav. Brain Res.*, 13 (1984) 53-61.
- 28 Stein, D.G., Finger, S. and Hart, T., Brain damage and recovery: problems and perspectives, *Behav. Neural. Biol.*, 37 (1983) 185-222.
- 29 Zimmer, J. Laurberg, S. and Sunde, N., Neuroanatomical aspects of normal and transplanted hippocampal tissue. In W. Seifert, (Ed.), *Neurobiology of the Hippocampus*, Academic Press, New York, 1983.

## EL EJE PITUITARIO ADRENAL Y LOS PROCESOS COGNOSCITIVOS

### RESUMEN

Los efectos de las hormonas del Eje Pituitario Adrenal (EPA) sobre el Sistema Nervioso Central se han relacionado principalmente con los procesos de almacenamiento de la información. En modelos conductuales de aprendizaje y memoria tales como la prevención pasiva y el condicionamiento de aversión a los sabores, se ha encontrado que los péptidos derivados de la proopiomelanocortina prolongan el período de extinción de las conductas aprendidas, mientras que los corticosteroides facilitan dicha extinción. Entre las estructuras cerebrales que han sido involucradas como mediadoras de los efectos de estas hormonas se encuentran los núcleos talámicos posteriores, el complejo septo-hipocámpal y los núcleos amigdalinos. Por último, en esta revisión se discute la posibilidad de que los efectos de las hormonas del EPA sean inespecíficos en los procesos de aprendizaje y memoria.

### I INTRODUCCION

Cuando el organismo se relaciona con su ambiente, se producen cambios conductuales que llevan, en la mayoría de los casos, a la transformación de su situación frente al entorno con el que interactúa. En los vertebrados, el eje pituitario adrenal (EPA) además de capacitar al individuo para responder instantáneamente ante los estímulos, crea las condiciones necesarias para que el animal reciba e integre la información que le llega del exterior al sistema nervioso central (SNC), esto es, facilita el aprendizaje de algunas características de su entorno.

La relación entre los mecanismos endócrinos y los procesos de aprendizaje y memoria fué reconocida desde la década de 1950 al desarrollarse los trabajos que involucran a los péptidos pituitarios y a los corticosteroides con efectos sobre algunas conductas. (Murphy y Miller, 1955; de Wied, 1967). A partir de esta época muchos estudios han examinado la relación entre el EPA y varios aspectos de la conducta, particularmente con respecto a los estados afectivos, reacciones emotivas, experiencias previas y condicionamientos aversivos (como las prevenciones pasiva y activa y el condicionamiento aversivo a los sabores) (Ader, 1976).

### II EJE PITUITARIO ADRENAL

Los cambios conductuales que suceden cuando el individuo está sujeto a los estímulos ambientales no están mediados solamente por el SNC, sino también por el sistema Nervioso periférico (SNP) y el sistema endócrino (SE); se ha visto que este último tiene una estrecha relación con el establecimiento de ciertas conductas aprendidas (de Wied, 1964, 1965).

Entre los mecanismos neurohumorales que están involucrados directamente con la homeostasis durante los momentos de tensión, está el funcionamiento del EPA que, dentro de los vertebrados, constituye uno de los mecanismos más importantes desarrollados a lo largo de la evolución y que les permite crear las condiciones adecuadas para responder ante cambios medioambientales.

### II. 1 ANATOMIA Y FISILOGIA DEL EJE PITUITARIO ADRENAL.

Ventral al hipotálamo, y comunicado con éste por medio del sistema porta, se localiza la glándula pituitaria o hipófisis. Esta se encuentra en la base del cerebro en una estructura ósea denominada silla turca. La hipófisis se divide en dos porciones: 1) La neurohipófisis, de origen nervioso, que se divide a su vez en lóbulo neural, pedúnculo hipofisario y eminencia media; y 2) La adenohipófisis, derivada de la invaginación de la faringe, y que consta de tres áreas: pars distalis, pars tuberalis y pars intermedia.

Las hormonas liberadas de la neurohipófisis son dos octapéptidos denominados oxitocina y vasopresina. La adenohipófisis secreta tres glucoproteínas: hormona foliculostimulante (FSH); hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH), cinco polipéptidos: la prolactina somatotropina, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y la hormona beta-Lipolítica.

La ACTH es un péptido de 39 aminoácidos, cuya secuencia 1-20 probablemente sea la parte más activa de la molécula. Su estructura esencial es la secuencia 4-7 en donde la fenilalanina en posición 7 desempeña un papel muy im-

\*Departamento de Neurociencias. Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 70-600, México 04510. México, D. F.

portante en los efectos de la hormona (Witter, Gispen y de Wied, 1981). La ACTH es sintetizada principalmente en la pars distalis de la glándula pituitaria; tiene como precursor a la pro-opiomelanocortina, proteína de alto peso molecular que da origen, además de la ACTH a algunos opioides como la metionina encefalina y la alfa y beta endorfinas y, por otra parte, a la MSH.

Los estímulos externos como el dolor o los sonidos llegan al hipotálamo vía tallo cerebral, mientras que los estímulos internos, como la variación de la presión arterial o el volumen del plasma llegan directamente al hipotálamo por vía sanguínea a través de los barorreceptores. De ambas formas se estimula la secreción del factor liberador de la corticotropina de la eminencia media. Este factor baja por el sistema porta hasta la adenohipófisis donde se libera la ACTH. El sistema de neurotransmisores también puede regular este proceso. Se sabe que la secreción de ACTH puede ser estimulada por la 5-Hidroxitriptamina e inhibida por la norepinefrina (Squire y Hasker, 1981).

Por los estudios clásicos de bioquímica y fisiología se sabe que la ACTH actúa en la zona cortical de la glándula suprarrenal, y promueve la síntesis y liberación de los esteroides corticales. La glándula es un ganglio simpático cuyas neuronas postganglionares se han convertido en células secretoras al perder sus axones; de esta glándula se secreta la epinefrina y la norepinefrina, las cuales intervienen en la fisiología y metabolismo del hígado, del músculo esquelético y cardíaco; asimismo tienen efectos vasoconstrictores y aumentan la actividad de movilización de los ácidos grasos libres, entre otros efectos.

La corteza suprarrenal secreta los glucocorticoides, los mineralocorticoides y una pequeña cantidad de hormonas sexuales. Los primeros, como el cortisol y la corticosterona, regulan los niveles en la glucosa en la sangre, además de influir en el metabolismo de lípidos y proteínas. Mientras que los segundos, como la aldosterona y la dexametasona, intervienen en la regulación de los electrolitos en la sangre mediante el cambio de permeabilidad para algunos iones como el  $\text{Na}^+$ , en los túbulos distales del riñón en donde se encuentran los receptores para esta hormona. Los efectos de la ACTH y de los corticosteroides son complejos y principalmente están asociados con los procesos que capacitan al organismo para reaccionar y responder ante los estímulos ambientales (Bohus, 1975).

### III EJE PITUITARIO ADRENAL Y LOS PROCESOS COGNOSCITIVOS

#### III. 1 COMPORTAMIENTO AVERSIVO.

Desde 1953 se sabe que el EPA está involucrado en los cambios conductuales provocados por el estrés. (Mirsky, Miller y Stein, 1953). Dos años después, Murphy y Miller encontraron que la administración de 5 mg de ACTH durante el período de adquisición de una tarea de prevención activa no afecta a la adquisición, pero en ratas tratadas con esta hormona se prolonga el período de extinción. Estos resultados indicaron que la ACTH tiene un efecto en la respuesta condicionada al miedo, sin embargo estos resultados no fueron concluyentes:

Investigaciones subsecuentes fueron necesarias para elucidar la posible participación de la corteza suprarrenal en los efectos conductuales de la ACTH Miller y Ogawa, en 1962, reportaron algunos experimentos de adiestramiento aversivo en ratas que fueron previamente adrenalectomizadas. Así, encontraron que la administración exógena de ACTH tiene el mismo efecto en ratas operadas y ratas con operación falsa, esto es, un retraso en la extinción de la respuesta aversiva. Para estos autores el efecto no es mediado por las suprarrenales, pudiendo actuar directamente en una estructura cerebral involucrada en el comportamiento emocional.

Muchos de los trabajos que relacionan a los péptidos pituitarios con los procesos de aprendizaje han sido realizados por de Wied. Este autor descubrió que después de la extirpación de la glándula pituitaria, los animales presentan una reducción en la capacidad para adquirir una respuesta aversiva (de Wied, 1969). Estos efectos en el comportamiento pueden ser abolidos farmacológicamente con la administración externa de ACTH, de la MSH de la vasopresina y otros péptidos relacionados (de Wied, 1969, Bohus, Gispen y de Wied, 1973).

Así, también en ratas que han sido hipofisectomizadas (Hipop), la alfa-MSH facilita la adquisición y retrasa la extinción de la respuesta de prevención pasiva. La alfa-MSH también incrementa la defecación inducida por una aversión pasiva tanto en animales Hipox como en los animales con operación falsa (Datta y King, 1980).

Tratando de esclarecer el mecanismo de acción de la ACTH en la conducta de evitación, se ha encontrado que algunos análogos de la ACTH, como por ejemplo la ACTH 4-10, la cual no libera corticosteroides de la corteza adrenal, sigue induciendo retraso significativo de la extinción de la respuesta aversiva (Smotherman y Levine, 1978), con lo cual se infiere que existe una acción específica en el SNC, que se revisará más adelante.

Por otro lado, los corticoesteroides probablemente también tienen efectos directos en estructuras del sistema nervioso relacionadas con la conducta. Sin embargo, los procedimientos acostumbrados para estudiar la aversión tal vez no sean lo suficientemente sensibles como para detectar los efectos de estas hormonas, o la falta de éstas en ratas adrenalectomizadas. A pesar de esto se ha demostrado que la corteza adrenal, o la administración exógena de corticosteroides, es un requisito indispensable para que se presente una extinción normal en los animales.

### III.2 PEPTIDOS PITUITARIOS Y APRENDIZAJE AVERSIVO AL SABOR.

García y colaboradores han sugerido que hay dos sistemas sensoriales de defensa que subyacen al aprendizaje: uno de tipo interoceptivo, que incluye sensaciones gustatorias y viscerales, y otro de tipo exteroceptivo, que comprende sensaciones auditivas, visuales y cutáneas (García, Hankins y Rusiniak, 1974). García sugirió, además, que hay una asociación selectiva de estas dos clases de estímulos, mediada y separada por sustratos anatómicos correspondientes a los sistemas sensoriales interoceptivo y exteroceptivo, respectivamente (García y Ervin, 1968; García, Lasiter, Bermúdez-Rattoni y Deems, 1985). Las evidencias conductuales para tal diferenciación ya se han presentado extensamente, sirviendo la aversión gustativa como un modelo de condicionamiento y aprendizaje interno. Este mismo modelo se ha usado también para evaluar los efectos de las hormonas y los péptidos en la conducta (Bermúdez Rattoni, 1986).

Como se ha mencionado anteriormente, las ratas muestran una elevación de los niveles de corticosterona en el plasma cuando son probadas en retención de respuestas de prevención pasiva (Bohus, 1975). Smotherman y colaboradores encontraron, en 1976, que después de dar leche apareada con un irritante gástrico (LiCl) a sus animales, éstos mostraron un elevado nivel de corticoesteroides en el plasma en una segunda presentación de la leche. Los resultados fueron replicados por Ader en 1976, apareando sacarina con ciclofosfamida, la cual produce una fuerte aversión al sabor. En el grupo que presentó la aversión los niveles de esteroides medidos, 3 ó 6 días después de la adquisición, fueron significativamente altos en relación con el grupo control (Smotherman, Hennesy y Levine, 1976).

Así, los péptidos pituitarios, como ACTH, ACTH 4-10 y alfa-MSH producen retardo en la extinción de las respuestas motivadas apetitivamente (Garraud, Gray y De Wied, 1974; Kastin, Dampsey, LeBlanc, Dister-Aas, y Schelly, 1974). En este sentido, Ritger y Popping (1975) estudiaron el efecto de la alfa-MSH y la ACTH 4-10, en los dos diferentes procesos de aversión al sabor: en la extinción

forzada, donde el sabor condicionante (azúcar disuelta) se mantiene como único fluido presente para los animales durante la extinción, y en la prueba de ingesta donde el animal puede escoger entre el agua simple y el agua con azúcar durante la extinción. Los resultados muestran que la ACTH 4-10 y la alfa-MSH prolongan la extinción en la prueba de preferencia pero no en la prueba forzada.

Los procedimientos de aversión al sabor son un excelente método para evaluar si las inyecciones de péptidos pituitarios pueden producir aversión por sí mismas. Dado que los organismos tienen ya de hecho niveles endógenos de estos compuestos, en el momento de la prueba aversiva, la administración exógena puede conducir a una sobredosis. Para evaluar esto, Smotherman y Levine (1978) probaron los efectos de la ACTH y la ACTH 4-10 en una prueba de preferencia de ingesta de agua en animales que previamente fueron condicionados con leche y, posteriormente, se les administró LiCl intragástricamente. Encontraron que la ACTH tiene efectos más pronunciados que la ACTH 4-10, aunque ambos produjeron incrementos en la extinción comparados con el grupo control. En un segundo experimento los mismos autores aparearon leche con ACTH corticosterona o salina, administradas 20 minutos después de la sesión de adquisición (ingesta). Ninguna de las sustancias aplicadas tuvo efecto aversivo en la ingesta durante las sesiones de prueba, concluyendo que la acción de los péptidos y hormonas pituitarias no son debidas a un efecto tóxico inespecífico.

### III.3 OTROS PEPTIDOS PITUITARIOS RELACIONADOS CON LOS PROCESOS COGNOSCITIVOS.

Los péptidos biológicamente activos, como la ACTH, forman parte de los grandes precursores glucoprotéicos sintetizados por las células de la glándula pituitaria. La beta lipoproteína (BLPH 1-91) y los péptidos biológicamente activos, como la beta endorfina (BLPH 61-91) y la alfa endorfina (BLPH 61-76), están presentes en las mismas células de los lóbulos anterior e intermedio de la glándula pituitaria (Bloom, Battenberg, Rossier, Ling, Leppaluoto Vargo y Guillemin, 1977). Guillemin, Vargo, Rossier, Minick, Ling, Rivier, Vale y Bloom demostraron, en 1977, que la ACTH y la beta endorfina son secretadas simultáneamente de la glándula pituitaria como respuesta tanto a un estrés agudo como a la adrenalectomía. Estos autores también demostraron que si se administra la dexometasona, posteriormente al estrés, las secreciones de ACTH y de beta endorfina se reducen gradualmente.

Al parecer, además de la ACTH, MSH y vasopresina, los otros péptidos pituitarios también pueden tener efectos en la conducta. De esta forma, con la administración de extractos de los péptidos BLPH se provoca la restauración de la

adquisición de una aversión activa en ratas hipofisectomizadas (de Wied y Gispen, 1977). La alfa-endorfina y beta-endorfina parecen ser tan activas como la ACTH 4-10, la cual disminuye, significativamente, la extinción de la respuesta aversiva de brinco a un poste (pole-jumping), como le proponen de Weid y Gispen (1977).

Uhl y colaboradores (1978) describieron una sustancia endógena que actúa en forma semejante a un opioide exógeno. Posteriormente, estos autores identificaron 2 péptidos denominados metionina y leucina encefalina cuya diferencia solo estriba en el aminoácido terminal. Estos dos péptidos tienen una gran actividad agonista por los sitios de reconocimiento a los opiáceos en el ratón, y sus efectos pueden ser antagonizados por la naloxona (Hughes, Smith, Kosterlitz, Fothergill, Morgan y Morris, 1975; Uhl, Childers y Snyder, 1978).

Los efectos de la metionina y la leucina encefalina han sido probados en tareas de aprendizaje. En animales normales la administración de metionina y leucina encefalina afecta a la adquisición de una prevención pasiva (Ritger, 1978; Ritger, Hannan, Messing, Martínez, Vázquez, Jensen, Valiquette y McGaugh, 1980). Se propone que los efectos de las encefalinas estén mediados por la médula adrenal, ya que la meduloadrenalectomía evita el daño que produce la acción de la leucina y metionina encefalina (Martínez, Ritger, Jensen, Messing, Vázquez y McGaugh, 1981; Martínez y Ritger 1982; Martínez, 1986).

### III.4 EFECTO DE LAS HORMONAS DEL EPA EN HUMANOS.

En humanos, la hipótesis de que la ACTH o la MSH tienen efectos sobre la atención y/o en la fisiología de la percepción también fue comprobada. Sandman, George, McCanne, Nolan, Kaswan y Kastin en 1977 estudiaron a siete personas voluntarias. A unas se les inyectó el compuesto MSH-ACTH 4-10 y a otras una solución salina como control, en una prueba completamente cruzada y balanceada. Ellos hallaron que el efecto del compuesto MSH/ACTH 4-10 fue incrementar tanto el umbral a la detección de un estímulo cuando éste se presenta una sola vez, así como facilitar la integración perceptual de un patrón de información, al mejorar la habilidad de los sujetos para discriminar la información relevante de la irrelevante en la prueba.

Los trabajos con humanos se derivaron de las observaciones hechas en ratas, en donde se encontraron efectos diferenciales del compuesto MSH/ACTH 4-10, dependiendo del sexo. Veith, Sandman, George y Stevens (1978) demostraron que la administración de MSH/ACTH 4-10 también tiene efectos diferenciales en hombres y en mujeres. Así, en mujeres la administración de MSH/ACTH 4-10 (30 mg s.c)

produce deficiencias en la memoria verbal y una mejora en la atención visual. En contraste, se ha reportado que la administración de estos péptidos en el hombre facilita la atención y la memoria visual, aumenta la habilidad para elaborar conceptos y, poco a poco, pero en forma significativa, la ansiedad (Miller, Harris, Van Riezen y Kastin, 1976).

Siguiendo esta misma línea de experimentación con humanos, existe una aparente relación entre la atención y la actividad simpatoadreno-cortical. Brandenberger y colaboradores, en 1980, realizaron una medida de los niveles plasmáticos de catecolaminas y hormonas de la glándula pituitaria en ocho individuos mientras ejecutaban una tarea de memoria de corto plazo bajo condiciones de calma y de ruido. En la segunda condición los niveles de cortisol, adrenalina y noradrenalina incrementaron significativamente mientras que los niveles de dopamina y hormona de crecimiento permanecieron constantes. La adrenalina y la noradrenalina mostraron un incremento inmediato ligado aparentemente a la respuesta anticipatoria provocada por la prueba. Se encontró una correlación positiva entre el incremento individual de los niveles de cortisol en plasma y el número de errores en la prueba de precisión del recuerdo (Brandenberg, Follenius, Wittersheim y Salame, 1980).

Mucha de la investigación con el EPA en humanos ha concordado razonablemente con los estudios en animales. Sin embargo, aún es prematuro concluir que los procedimientos y condiciones sean equivalentes con los usados en animales. No obstante, tanto las investigaciones en animales como en humanos están encaminadas en la misma dirección.

### IV POSIBLES SITIOS DE ACCIÓN DE LA ACTH Y DE LOS CORTICOSTEROIDES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Los sitios de acción de los péptidos pituitarios y de las hormonas de la corteza adrenal en el SNC han sido explorados mediante diversos estudios que involucran: la destrucción de zonas específicas del cerebro para bloquear los efectos conductuales; la implantación de las hormonas directamente en estructuras cerebrales específicas o en zonas cercanas, así como con estudios de unión específica entre ligandos y receptores.

Bohus y de Wied (1967) sugirieron que la región parasfilar del tálamo es una estructura importante para mediar los efectos conductuales de la ACTH y péptidos relacionados. Tales autores demostraron que la destrucción de esta área no afecta la adquisición de una tarea de prevención activa, pero la lesión da como resultado la facilitación de la extinción. Esta idea fue apoyada por van Wimersma Greidanus y de Wied (1971), quienes demostraron que la

inyección intracerebral del fragmento 4-10 de la ACTH prolonga el período de extinción de una respuesta aversiva. Por otro lado Cardo (1967) reportó una mejoría en la ejecución de una respuesta aversiva con la estimulación eléctrica del núcleo parasagital del tálamo.

Se ha propuesto, al sistema límbico como un sitio mediador de los efectos de las hormonas pituitarias y adrenales. Con respecto a esto, van Wimersma Greidanus y de Wied (1976) reportaron que la ACTH no tiene ningún efecto sobre la extinción de la respuesta aversiva en una tarea de prevención activa en animales que previamente fueron lesionados bilateralmente en el hipocampo dorsal. Se sabe que la estimulación eléctrica de esta estructura, produce inhibición del sistema pituitario-adrenal, al bloquear la liberación de ACTH.

En humanos, Rubin, Mendell y Crandall observaron, en 1966, una influencia inhibitoria del EPA como consecuencia de la estimulación eléctrica de baja frecuencia en las capas CA1 y CA2 del hipocampo; en tanto que Urban y de Wied (1976) demostraron que la ACTH altera la actividad Teta del hipocampo. En este mismo sentido, van Wimersma Greidanus (1979) reportó que las lesiones del hipocampo dorsal en las ratas, previenen la influencia inhibitoria de la ACTH sobre el período de extinción en una conducta de prevención de salto al poste. Por ello se ha propuesto que el hipocampo es un sitio importante de recepción de la ACTH. Alternativamente, Bohus (1975), sugiere que las estructuras que regulan la actividad del hipocampo sean los sitios principales de acción de la ACTH.

Knizley (1971) demostró, con ratas adrenalectomizadas, que el complejo septo-hipocámpal es el blanco primario de los corticosteroides en el cerebro. La (3 H) corticosterona se une con las neuronas piramidales en la zona CA1 y CA2 del hipocampo y altera el metabolismo de estas células regulando la actividad de algunas enzimas como la glicerofosfato deshidrogenasa (de Vellis e English, 1968); la fenil-etanolamin-N-metiltransferasa (Pohorecky y Wurtman, 1971) y la glutamina sintetasa (Moscona y Piddington, 1966). Los glucocorticoides incrementan la síntesis de serotonina, GABA y ácido glutámico (McEwen, Zigmond y Gerlach, 1972). La inyección de corticosteroides en el hipocampo ventral y dorsal, provoca el incremento de la secreción de ACTH, tanto basal como la inducida por el stress (Davidson y Feldman, 1967; McEwen y col., 1972; Pfaff, Silva y Weiss, 1971).

Bohus (1975) ha reportado que las estructuras cerebrales que son blanco de los corticosteroides también están involucrados en la facilitación de las respuestas condicionadas en tareas de prevención.

Por otra parte, Bush, Lovel y Pagano en 1973 reportaron que la administración sistémica de ACTH restaura la deficiencia en la adquisición en las cajas de prevención, en ratas que previamente habían sido lesionadas en la amígdala. De igual forma, van Wimersma Greidanus en 1979 demostró el bloqueo en los efectos de la ACTH sobre conductas aversivas de Salto al poste en ratas con lesiones en la amígdala. Por su parte Bohus demostró en 1975 que se presenta un déficit de corticosteroides en el plasma como consecuencia de la ablación bilateral de la amígdala.

Estos resultados sugieren que la amígdala es un sitio excitatorio importante para la secreción basal de ACTH (Burt y Smotherman, 1930), así como de la liberación de la hormona inducida por el stress (Allen y Allen, 1975). Las deficiencias en los procesos cognoscitivos que se presentan como consecuencia de estas lesiones son debidas a la incapacidad del organismo de dar una respuesta pituitario-adrenocortical normal frente a los estímulos nocivos del medio ambiente.

En resumen, los datos obtenidos mediante las técnicas de lesión de estructuras cerebrales; de implante de hormonas en sitios específicos; así como las técnicas de unión entre ligando y receptor realizadas principalmente por van Wimersma Greidanus y de Wied (1976) Witer, Gispén y de Wied (1981), indican que existen múltiples sitios de acción en el SNC para estas hormonas, dentro de las que se encuentran las estructuras talámicas posteriores así como el complejo septo-hipocámpal, y los núcleos amigdalinos en el Sistema Límbico.

De las observaciones anteriores se propone que el circuito Sistema Límbico-Sistema Pituitario-Adrenal constituye uno de los mecanismos de retroalimentación involucrados en los procesos cognoscitivos y cuya integridad es esencial para la evocación de respuestas conductuales (Bohus, 1975).

## V EFECTOS INESPECIFICOS DE LA ACTH.

Se ha discutido ampliamente la posibilidad de que los efectos de las hormonas del EPA sean inespecíficos para los procesos de memoria y aprendizaje. En este sentido se han realizado estudios de los efectos de las hormonas en otros contextos. Se sugiere que los cambios en la atención, en la excitación o en la motivación pueden ser la causa de las variaciones en la extinción. Además, se ha reconocido siempre que es difícil separar los efectos sobre la memoria de los efectos sobre otros aspectos de las funciones cerebrales, como por ejemplo, cambios en la sensibilidad o en la actividad locomotora que pueden afectar la ejecución de algunas tareas como las de prevención pasiva.

Debido a que los animales que han sido sometidos a tensión en alguna etapa de su vida, son generalmente más sensibles para muchos tipos de estímulos con respecto a los animales que no han sido estimulados, se sugiere que el EPA está involucrado en procesos de sensibilización o de habituación.

Las experiencias sensoriales determinan la posibilidad que tiene el animal para aprender y seleccionar la respuesta conductual más apropiada para hacer frente a los estímulos. Las características de estos estímulos, la motivación en una situación particular, el estado fisiológico del individuo y el aprendizaje previo determinan la ejecución de una conducta. Las investigaciones encaminadas a integrar esta información con los conocimientos que se tienen acerca de los efectos de la ACTH sobre los procesos de aprendizaje y memoria, fueron desarrollados en la década de 1970. Ley y Corson reportaron en 1971 que la duración y la intensidad del estímulo provocan respuestas diferentes en ratas de distinto sexo a quienes les fueron administradas ACTH. Bohus y de Wied en 1981 encontraron que la baja intensidad del shock (0.15 mA) y un intervalo corto entre estímulo condicionado y estímulo incondicionado disminuyen la adquisición de la aversión de un paradigma de prevención pasiva.

En nuestro laboratorio hemos observado que las ratas probadas en prevención pasiva y evitación al olor 2 o 3 días después de la adrenalectomía, presentan un retraso en la extinción, en tanto que las probadas en el día 14 después de la operación, cuando se alcanza el pico máximo de ACTH, presentan una disminución en la respuesta de aversión. Estos resultados los hemos correlacionado con la medida de la sensibilidad de los animales mediante el método de "Tail Flick", encontrando que durante el día 14 posterior a la adrenalectomía, las ratas presentan un aumento significativo en el umbral al dolor. Con esto sugerimos que la disminución de la respuesta de aversión en los dos condicionamientos mencionados no es consecuencia de deficiencias en el aprendizaje y/o la memoria por el efecto de la alta concentración de ACTH, sino por la disminución de la sensibilidad de las ratas operadas (Sánchez, Márquez y Bermúdez-Rattoni, 1985; Sánchez, Pérez y Bermúdez-Rattoni, 1986).

De lo anterior se propone que la ACTH funciona como neuromodulador en los procesos de almacenamiento de memoria, cuyos efectos dependen de la concentración de este péptido en las estructuras cerebrales involucradas en los procesos cognoscitivos, del sexo y del estado fisiológico del organismo, así como de las características del estímulo que recibe el animal.

## VI CONCLUSIONES

Durante los últimos años se ha venido incrementando el número de investigaciones que tratan de dilucidar el papel que desempeñan las hormonas y péptidos pituitarios en la adquisición y mantenimiento de las conductas aprendidas. Así hemos visto que los péptidos pituitarios, tales como la MSH, la ACTH, la vasopresina, además de la alfa y beta-Endorfina, retrasan la extinción de las respuestas aversivas, tanto de prevención pasiva como activa. Al parecer, estos efectos no son mediados por las glándulas suprarrenales, ya que aquellos péptidos análogos de la ACTH como el polipéptido ACTH 4-10 tiene el mismo efecto que su precursor en el mantenimiento de la conducta, sin actuar directamente sobre la glándula suprarrenal. Sin embargo, la posibilidad de que la acción de los péptidos pituitarios en la conducta sean debidos a efectos colaterales o inespecíficos, también fue revisada.

El modelo propuesto por García y colaboradores en 1985 de la asociación selectiva de estímulos por los sistemas sensoriales exteroceptivo o interoceptivo, se ha considerado como un modelo óptimo para la evaluación de las péptidos pituitarios. Nuevamente, se encontró que la ACTH 4-10 y la alfa-MSH retrasan la extinción del aprendizaje aversivo al sabor en pruebas de preferencia. Además se ha logrado demostrar que la aplicación de los péptidos pituitarios no producen por sí mismos aversiones cuando son utilizados como estímulos incondicionados. Esto permite disminuir la posibilidad de que los efectos de los péptidos son debidos a efectos tóxicos o colaterales inespecíficos.

También, se ha tratado de generalizar estos estudios en sujetos humanos, puesto que se ha reportado que en pacientes con diabetes insípida, la cual presenta una deficiencia en vasopresina, tienen pérdida de la memoria, que puede ser revertida con la administración exógena de la hormona. En este sentido, aplicaciones exógenas de vasopresina, así como otros péptidos producen efectos diferenciales en el hombre y la mujer en pruebas de atención y memoria. Aún cuando estos estudios han correspondido a los realizados en animales de laboratorio, no se puede asegurar su equivalencia por las obvias diferencias metodológicas empleadas.

En la búsqueda de los sitios de acción de estos péptidos en el sistema nervioso, se ha considerado al sistema límbico como el posible lugar donde existan receptores específicos a los péptidos involucrados en las conductas estudiadas. También se ha postulado que la amígdala regula los niveles basales de ACTH, así como su liberación ante el es-

trés, por lo cual se considera probable que sea un lugar de acción de los péptidos que regulan la conducta. En este sentido, se ha reportado al sistema límbico (en especial el septo-hipocampal) como inhibidor del EPA. Además, se ha demostrado que en animales el hipocampo y el septum tienen receptores para la corticosterona, lo cual hace suponer que este sistema recibe retroalimentación del EPA. Las mismas estructuras del sistema límbico que son sensibles a los corticosteroides producen incrementos en la extinción de respuestas condicionadas de prevención.

En el presente trabajo se ha realizado un análisis de las investigaciones más sobresalientes en el campo de la neuroendocrinología conductual, enfatizando la importancia que tiene el sistema pituitario-adrenal principalmente en el mantenimiento de las conductas aprendidas. Entre los trabajos más notables están aquellos que postulan que existen interacciones entre sustratos anatómicos específicos del sistema nervioso, como el sistema límbico, con neurotransmisores y posibles neuromoduladores que, actuando conjuntamente, mantienen las conductas aprendidas. Lo anterior permite la elaboración de uno o varios modelos que pudieran ser capaces de explicar en cierta medida el papel que las hormonas y péptidos pituitarios tienen en el mantenimiento de las conductas aprendidas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ader, R. (1976). Conditioned adrenocortical steroid elevation in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 90 (12), 1156-1163.
- Allen, J. P. y Allen, C. F. (1975). Amigdalal participation in tonic ACTH secretion in the rat. *Neuroendocrinology*, 19, 116-125.
- Bermúdez-Rattoni, F. (1986). La integración neural de los hábitos alimenticios. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos*, 34 (1-4), 43-50.
- Bloom, F., Battenberg, E., Rossier, J., Ling, N., Leppaluoto, J., Vargo, T. M. y Guillemin, R. (1977). Endorphine relocated in the intermediate and anterior lobes of the pituitary gland, not in the neurohypophysis. *Life Science*, 20, 43.
- Bohus, B., y de Wied, D. (1967). Avoidance and escape behavior following medial thalamic lesions in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 64, 26-29.
- Bohus, B., y de Wied, D. (1981). Actions of ACTH and MSH-Like peptides on learning performance and retention. En: *Endogenous Peptides and Learning and Memory Processes*. J. L. Martínez, R. A. Jensen, R. B. Messing, H. Rigger y J. L. McCaugh. Behavioral Biology, an International Series. Academic Press, New York. pp. 59-77.
- Bohus, B., Gispén W. H., y de Wied, D. (1973). Effects of lysine vasopressin and ACTH 4-10 on conditioned avoidance behavior of hypophysectomized rats. *Neuroendocrinology*, 11, 137-143.
- Bohus, B. (1975). The Hippocampus and the pituitary-adrenal system hormones. En: *The Hippocampus*. Ed. R. L. Isaacson, y K. H. Pribram. Plenum Press, New York and London pp. 323-353.
- Brandenberg, G., Follenius, M., Wittersheim, G. y Salame, P. (1980). Plasma catecholamines and pituitary adrenal hormones related to mental task demanda under quiet and noise conditions. *Biological Psychology*, 10 (4), 239-252.
- Burt, G. S. y Smotherman, W. P. (1980). Amygdalectomy-induced deficits in conditioned taste aversion: Posible pituitary adrenal involvement. *Physiology and Behavior*, 24, 651-655.
- Bush, D. F., Lovely, R. H. y Pagano, R. R. (1973). Injection of ACTH induces recovery from shuttle-box avoidance deficit in rats with amygdaloid lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 83, 168-172.
- Cardo, B. (1967). Effects de la stimulation du noyau parafasciculaire thalamique sur l'acquisition d'un conditionnement d'évitement chez le rat. *Physiology and Behavior*, 2, 245-248.
- Datta, P. C. y King, M. G. (1980). Effects of alpha-MSH and melatonin on passive avoidance and on PA-induced defecation and plasma 11-OHCS in hypophysectomized rats. *Peptides* (Fayetteville), 1 (2), 147-153.
- Davidson, J. M. y Feldman, S. (1967). Effects of extrahypothalamic dexamethasone implants on the pituitary-adrenal system. *Acta Endocrinológica*, 55, 240-246.
- De Wied, D. (1964). Influence of anterior pituitary on avoidance learning and escape behavior. *American Journal of Physiology*, 207, 255-259.
- De Wied, D. (1965). The influence of the posterior and intermediate lobe of the pituitary and pituitary peptides on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *International Journal of Neuropharmacology*, 4, 157-167.
- De Wied, D. (1967). Opposite effects of ACTH and Glucocorticoids of extinction of conditioned avoidance behavior. *Excerpta Med. Int. Congr. Ser.*, 132, 945.

- De Wied, D. (1969). Effects of peptides hormones on behavior. En: W. F. Ganog and L. Martini (Eds), *Frontiers in neuroendocrinology*. Oxford: Oxford University Press. pp. 97-180.
- De Wied, D. y Gispen, W. H. (1977). Behavioral effects of peptides. En: H. Gainer (Ed), *Peptides in Neurobiology*, New York: Plenum Press. pp 391-441.
- García, J., Hankins, W. G. y Rusiniak, K. W. (1974). Behavioral regulations of the milieu interne in man and rat. *Science*, 185, 824-831.
- García, J. y Ervin, F. (1968). Gustatory-visceral and tele-receptor cutaneous conditioning-adaptation in internal and external milieus. *Comparative Behavior Biology*, 1, 389.
- García, J., Lasiter, P.S., Bermúdez-Rattoni, F. y Deems, D. (1985). A general theory of aversion learning. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443, 8-20.
- Garráud, P., Gray, J. A. y De Wied, D. (1974). Pituitary adrenal hormones and extinction of rewarder behavior in the rat. *Physiology and Behavior*, 12, 109-119.
- Gold, P. E. y van Buskirk, R. B. (1976). Effects of post-trial hormone injection on memory processes. *Hormone and Behavior*, 7, 509-517.
- Guillemin, R., Vargo, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., Rivier, C., Vale, W. y Bloom, F. (1977). B-endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science*, 197, 1367-1369.
- Huges, J., Smith, T. W., Kosterlitz, H. W., Fothergill, L.A., Morgan, B. A. y Morris, H.R. (1975). Identification of Two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, 58, 557-579.
- Kastin, A. J., Dempsey, G. L., Le Blanc, B., Dyster-Aas, K. y Schally, A. V. (1974). Extinction of an appetitive operant response after administration of MSH. *Hormone and Behavior*, 5, 135-139.
- Knizley, H., Jr. (1972). The Hippocampus and septal area as primary target sites of corticosterone. *Journal of Neurochemistry*, 19, 2737-2745.
- Ley, K. F., Corson, J. A. (1971). ACTH: Differential effects on avoidance and discrimination. *Experientia*, 27, 958.
- Martínez, J. L. (jr.), Rigter, H., Jensen, R.A., Messing, R. B., Vasquez, B. J. y McGaugh, J.L. (1981). Endorphin and enkephalin side effects on avoidance conditioning: The other side of the pituitary-adrenal axis. En: J. L. Martínez, Jr., R.A. Jensen, R. B. Messing, B.J. Vasquez y J. L. McGaugh (Eds), *Endogenous peptides and learning and memory processes*. New York: Academic Press. pp 305-324.
- Martínez, J. L. (Jr.), y Rigter, H. (1982). Enkephalin acts on avoidance conditioning may be related to adrenal medullary function. *Behavioral Brain Research*, 6, 289-299.
- Martínez, J. L. (Jr.) (1986). Memory: Drugs and hormones. En: J. L. Martínez, Jr. y R.P. Kesner (Eds). *Learning and memory*. Academic Press, New York. Vol. 5.
- McEwen, B.S., Zigmond, R.E. y Gerlach J.L. (1972). Sites of steroid binding and action in the brain. En: G. H. Bourne (Ed.), *Structure and function of nervous tissue*. New York: Academic Press. Vol. 5.
- Miller, L.H., Harris, L.C., Van Riezen, H y Kastin, A.J. (1976). Neuroheptapeptides influence on attention and memory in man. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1, 17-21.
- Miller, R.E., y Ogawa, N. (1962). The effects of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on avoidance conditioning in the adrenalectomized rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 55, 211-213.
- Mirsky, S., Miller, R. y Stein, N. (1953). Relation of adrenocortical activity on avoidance behavior. *Psychosomatic Medicine*, 15, 574-588.
- Moscona, A.A., y Piddington, R (1966). Stimulation by hydrocortisone of premature changes in the development pattern of glutamine synthetase in embryonic retina. *Biochimica et Biophysica Acta*, 121, 409-411.
- Murphy, J. V., Miller, D. E. (1955). The effects of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on avoidance conditioning in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48, 47-49.
- Pfaff, D. W., Silva, M.T.A. y Weiss, J. (1971) Telemetered recording of hormone effects of hippocampus neurons. *Science*, 172, 394-395.
- Pohorecky, L.A., y R. J. Wurtman. (1971). Adrenocortical control of epinephrine synthesis. *Pharmacology Reviews*, 23, 1-35.

- Rigter, H. (1978). Attenuation of amnesia in rats by systematically administered enkephalins. *Science*, 200, 84-85.
- Rigter, H., Hannan, T.J., Messing, R.B., Martínez, J.L. (Jr), Vasquez, B.J., Jensen, R.D., Valiquette, J. y McGaugh, J.L. (1980). Enkephalin interfere with acquisition of an active avoidance response. *Life Science*, 26, 337-345.
- Rigter, H. y Popping, A. (1975). Hormonal influences on the extinction of conditioned taste aversion. *Psychopharmacology*, 46: 255-261.
- Rubin, R.T., Mendell, A.J. y Crandall, P.H. (1966). Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: Localization of stimulus sites. *Science*, 153, 767-768.
- Sánchez, M.A., Márquez, L. y Bermúdez-Rattoni, F. (1985). Hormonas y conducta: Disminución de la respuesta aversiva en ratas adrenalectomizadas sometidas a una tarea de prevención pasiva. Memorias del XXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Puebla.
- Sánchez, M.A., Pérez, J. y Bermúdez-Rattoni, F. (1986). Hormonas y conducta: ¿ Son específicos los efectos de la ACTH en las pruebas conductuales? Memorias del XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Guanajuato, Guanajuato.
- Sandman, C.A., George, J., McCanne, T.R., Nolan, J.D., Kaswan, J. y Kastin, A.J. (1977). Neuropeptide MSH/ACTH 4-10 influences behavioral and physiological measures of attention. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 44 (5), 884-891.
- Smotherman, W. P., Hennesy, J.W. y Levine, S. (1976). Plasma corticosterone levels during recovery from LiCl produced taste aversion. *Physiology and behavior*, 17, 903-908.
- Smotherman, W. P. y Levine, S. (1978). ACTH y ACTH 4-10 modification of neophobia and taste aversion responses in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92 (1), 22-33.
- Squire, L. R., y Hasker, P.D. (1981). The pharmacology of memory: A neurobiological perspective. *Annual Review Pharmacology and Toxicology*, 21, 323-356.
- Uhl, G.R., Childers, S.R. y Snyder, S. (1978). Opioid peptides and opiate receptor. En: W. F. Ganong and L. Martini (Eds). *Frontiers in neuroendocrinology*. New York: Raven Press.
- Urban, I. y De Wied, D. (1976). Changes in excitability of the theta activity generating substrate by ACTH 4-10 in the rat. *Experimental Brain Research*, 24, 325-344.
- Veith, J.L., Sandman, C. A., George, J.M. y Stevens, V.C. (1978) Effects of MSH/ACTH 4-10 on memory, attention and endogenous hormone levels in women. *Physiology and Behavior*, 20, 43-50.
- Vellis, J. de., e English, D. (1968). Hormonal control of glycerol phosphate dehydrogenase in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 15, 1961-1970.
- Wimersma Greidamus, T.B. Van, y De Wied, D. (1971). Effects of systemic and intracerebral administration of two opposite acting ACTH-Related peptides on extinction of conditioned avoidance behavior. *Neuroendocrinology*, 7, 291-301.
- Wimersma Greidamus, T.B. Van, y De Wied, D. (1976). Dorsal hippocampus: a site of action of neuropeptides on avoidance behavior. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 5, Suppl. 1, 29-33.
- Wimersma Greidamus, T. B. Van. (1979). Neuropeptides and avoidance behavior; with special reference to the effects of vasopressin, ACTH, and MSH on memory processes. En: *Central nervous system effects of hypothalamic hormones and other peptides*. Ed. R. Collu. Raven Press, New York, pp. 177-187.
- Witter, A., Gispen, W.H. y De Wied, D. (1981). Mechanism of action of behaviorally active ACTH-Like peptides. En: *Endogenous peptides and learning and memory processes*. Ed. J. L. Martínez, R.A. Jensen, R.B. Messing, H. Rigter, y J. L. McGaugh. Behavioral Biology, and International Series. Academy Press. New York. pp. 413-423.