

Tej. 31

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA BÁSICA

TRANSPLANTES DE TEJIDO CEREBRAL FETAL, INDUCEN RECUPERACIÓN DEL  
CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES EN RATAS

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA BÁSICA

PRESENTA

JUAN FERNÁNDEZ RUIZ

1987



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## I N D I C E

RESUMEN	1
CAPITULO I	2
1. PERSPECTIVA HISTORICA.....	2
2. PROBLEMAS METODOLOGICOS.....	5
3. ORGANIZACION DEL TRANSPLANTE.....	13
4. CONEXIONES TRANSPLANTE HUESPED.....	15
5. RECUPERACION FUNCIONAL.....	20
A) ESTUDIOS ELECTROFISIOLOGICOS.....	20
B) ESTUDIOS BIOQUIMICOS.....	21
C) RECUPERACION CONDUCTUAL.....	23
CAPITULO II	34
1. EL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES.....	34
2. NEUROANATOMIA GUSTATORIA.....	39
3. NEUROANATOMIA DE LA INTOXICACION.....	42
OBJETIVOS.....	47
CAPITULO III	48
1. METODO GENERAL.....	48
2. RESULTADOS.....	54
CAPITULO IV	60
1. DISCUSION.....	60
BIBLIOGRAFIA.....	74

## RESUMEN

Recientemente se ha descrito en la literatura que trasplantes de tejido cerebral fetal, restablecen la conectividad normal de ciertas regiones del cerebro adulto, y en algunos casos se ha reportado la integración funcional de la estructura transplantada.

En el presente trabajo se demostró la recuperación funcional de la corteza gustativa y del complejo amigdalino previamente lesionados, por medio de trasplantes de tejido nervioso fetal, para lo cual se utilizó el modelo conductual conocido como condicionamiento aversivo al sabor (CAS). El CAS consiste básicamente en la presentación de un estímulo gustativo (condicionado) seguido de una irritación gástrica (IG) como estímulo incondicionado, produciéndose así una conducta de aversión cuando se presenta nuevamente el sabor.

Por otra parte se sabe que la destrucción tanto de la corteza gustativa como de los núcleos amigdalinos, eliminan la capacidad de asociar un sabor con la IG imposibilitando establecer el condicionamiento aversivo.

En estos experimentos se trabajó con tres grupos de ratas: el primero fué de ratas lesionadas en la corteza gustativa, el segundo fué lesionado en los núcleos amigdalinos y el tercero fué un grupo control no lesionado. Estos grupos fueron sometidos a un procedimiento de condicionamiento aversivo al sabor, habituándolos primero a un registro diario de ingesta de agua y posteriormente apareando un estímulo gustativo seguido de una IG, mediante la administración de LiCl (140 mg/Kg) intragástricamente. A los individuos lesionados que no mostraron el CAS en las respectivas pruebas, se les transplantó tejido nervioso de fetos de 17 días de gestación, siendo el tejido transplantado de la región homóloga a la que había sido previamente lesionada en la rata experimental. Ocho semanas después, se probó con el procedimiento ya mencionado a los tres grupos de ratas. Mediante las pruebas se cuantificó el efecto de el transplante en la recuperación conductual de el animal, siendo dicha recuperación expresada mediante la recuperación de la aversión a los sabores después de la irritación gástrica.

Los resultados mostraron que el grupo que recibió transplante de corteza gustativa recuperó la aversión después del condicionamiento, mientras que el grupo que permaneció lesionado en la corteza sin recibir transplante no mostró ningún signo de recuperación. Por otro lado ambos grupos de amígdala, tanto el lesionado como el que recibió transplante, recuperaron la conducta de aversión, lo que indica un proceso de recuperación espontánea que no se observó en la corteza.

## CAPITULO I

## 1. Perspectiva Histórica.

Los primeros intentos de trasplantes de tejido nervioso se remontan a fines del siglo XIX, cuando W.G. Thompson en 1890 intercambió piezas de tejido neocortical entre gatos y perros adultos; Un análisis microscópico de los trasplantes le permitió sugerir que era posible la supervivencia de tejido nervioso transplantado. Sin embargo, no fue sino hasta 1907 cuando Del Conte realizó los primeros intentos de transplantar tejido embrionario al cerebro. Desafortunadamente sus experimentos los realizó con tejidos no nerviosos como hígado o riñón, por lo que no hubo crecimiento, y en consecuencia los implantes degeneraron.

En 1909, Ranson transplantó ganglios de ratas neonatas y adultas a la corteza de huéspedes jóvenes, obteniendo parcialmente la supervivencia de neuronas sensoriales. Más tarde, en 1914, al mismo Ranson y, paralelamente, Altobelli, transplantaron tejido nervioso a la región telencefálica de mamíferos adultos observando que los trasplantes sobrevivían por cortos periodos de tiempo.

El primer trasplante exitoso de tejido de sistema nervioso central (SNC), fue logrado por Dunn en 1917. Ella tomó tejido cortical de ratas de 9-10 días de nacidas y lo transplantó a cavidades hechas previamente en la corteza de neonatas de la misma camada. Esta técnica le permitió demostrar a Dunn que el tejido del SNC es capaz de desarrollarse aun cuando se encontrara en un medio extraño, diferente al natural.

Faldino (1924) y May (1930) demostraron que es posible el transplante de tejido del SNC a la cámara anterior del ojo, contando con la característica de poder observar el desarrollo e interacción de las células. Estos trabajos fueron seguidos por los de Le Gros Clark, quien reportó transplantes de tejido nervioso fetal que además de sobrevivir por períodos largos de tiempo, desarrollaron neuronas totalmente diferenciadas que mostraron grandes ramificaciones. Además, el autor pudo observar en el tejido una organización laminar intrínseca.

La primera evidencia de alguna interacción tranplante-huésped, la proporcionan los experimentos de Halaz y col. (1962) que reportaron transplantes intraventriculares de tejido pituitario junto al hipotálamo. El tejido transplantado fue capaz de producir secreción hormonal, de tal manera que fue posible pensar que los transplantes pueden compensar las deficiencias que han sido vistas en ratas hipofisectomizadas (Halasz et al 1963, 1965).

A partir de la década de los 70s a la fecha la técnica de transplantes de tejido nervioso ha cobrado una gran importancia, que se ve reflejada en el incesante aumento del número de publicaciones acerca de este tema. El porqué de este fenómeno lo podemos explicar con base en los beneficios que aporta al avance de la ciencia y la medicina. Dentro del campo de la ciencia, se usa para el estudio del desarrollo y organización del sistema nervioso central, para el reconocimiento de mecanismos de plasticidad y factores de crecimiento neuronal,

y para estudios diversos como puede ser el de mecanismos de aprendizaje y memoria.

Tabla I. Breve historia de los Transplantes al CNS.

1890 Thompson	Primeros intentos de transplantar tejido del SNC adulto.
1898 Forssman, J.	Reportó efectos neurotróficos de tejido del SNC transplantado.
1907 Del Conte, G.	Primer intento de transplantar tejido fetal.
1909 Ranson, W.	Primer trasplante exitoso de ganglio espinal al cerebro.
1911 Tello, F.	Primer trasplante exitoso de nervios periféricos al cerebro.
1917 Dunn, E.	Primer trasplante exitoso de tejido de SNC neonato al cerebro.
1921 Shinoi, Y.	Primera demostración de que el cerebro es un sitio inmunológicamente privilegiado.
1924 Faldino, G.	Primer trasplante exitoso de tejido de SNC a la cámara anterior del ojo.
1940 Le Gros Clark.	Primer trasplante exitoso de tejido del SNC fetal al cerebro de neonatos.
1957 Flerkó y col.	Primer trasplante intraventricular de tejido endocrino.
1970 Das y col.	Primer estudio de desarrollo morfológico de transplantes en el SNC.

## 2. Problemas metodológicos.

Debido a la gran importancia que ha cobrado el procedimiento de los trasplantes dentro del campo de las neurociencias, fué necesario la realización de estudios que caracterizaran el crecimiento y desarrollo de los mismos. Estos estudios dieron la pauta para futuras investigaciones dentro de esta área, por lo cual se considera importante mencionarlos al principio de este capítulo.

Para entender la viabilidad de los trasplantes de tejido nervioso, es necesario tener en consideración aspectos que influyen en el desarrollo de los mismos dentro del huésped. A continuación serán mencionados algunos de los más importantes.

La edad del huésped y la del donador. En una serie de estudios, Das y col. (1980) investigaron las diferencias en el crecimiento de tejidos transplantados. En un primer estudio, observaron las variaciones debidas a la utilización de tejido fetal de diferentes edades, utilizando en este estudio embriones de 15 a 21 días de gestación. (figura 1). El volumen de tejido obtenido de los fetos de diferentes edades fue constante. Una vez obtenido el tejido, éste fué transplantado al cerebelo de ratas de 10 días de nacidas. Noventa días después del trasplante se analizó cuantitativa y cualitativamente el crecimiento total de los trasplantes.



Tejido neocortical de embriones de diferentes edades en el cerebelo del huésped

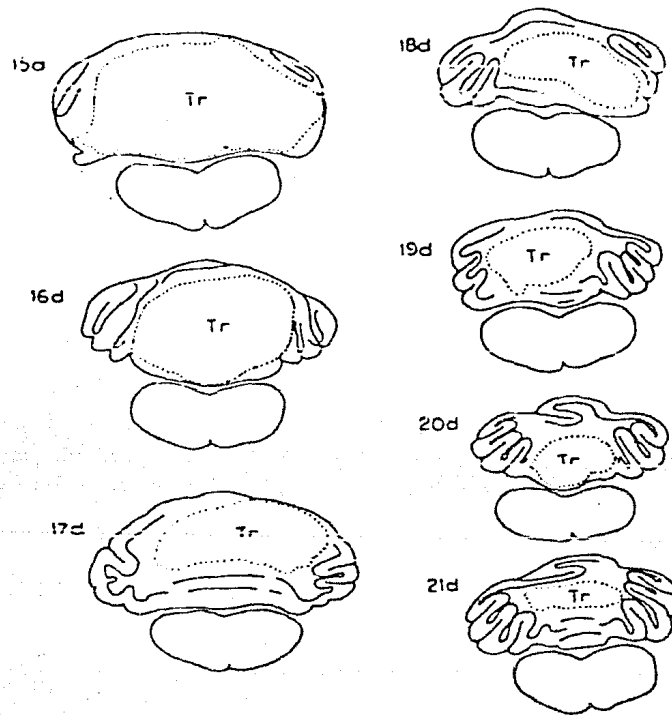


Figura 1.- Dibujos de secciones coronales de cerebros huéspedes, mostrando el tamaño final de transplantes de tejido cortical en el cerebelo. Los transplantes (tr) están delineados por líneas punteadas. El número adyacente a cada dibujo indica la edad del embrión del que se tomó el tejido transplantado. (Tomado de Bas y col., 1980).

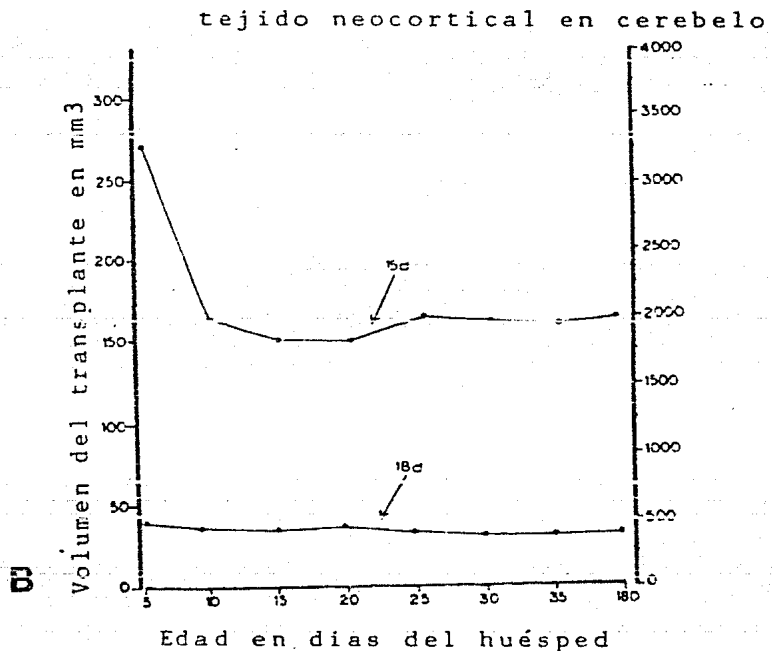
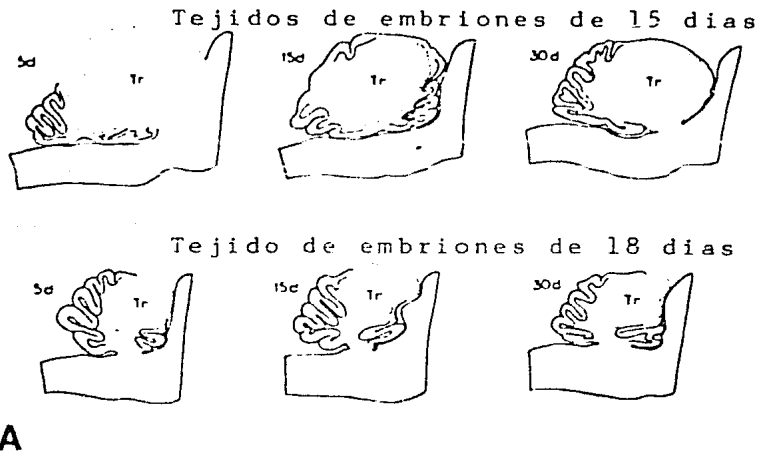
El volumen final y el número total estimado de neuronas de los trasplantes, siguieron un gradiente en relación a la edad de los embriones que lo donaron. En un extremo, los trasplantes de embriones de 15 días fueron muy grandes, mostrando un incremento de hasta 21 veces el tamaño original, y en el otro extremo los trasplantes de embriones de 21 días crecieron menos de 2 veces en volumen. Las diferencias que se encontraron, pueden ser explicadas mediante el análisis del desarrollo de los trasplantes.

El tejido neural obtenido de embriones de 15 días contiene predominantemente células neuroepiteliales, las cuales continúan proliferando aún después del trasplante. Esto da como resultado el gran tamaño de los trasplantes de tejido obtenido de esta fecha. Al otro extremo, el tejido neural de embriones de 21 días contiene predominantemente neuroblastos, los cuales simplemente se diferencian después de transplantados. Debido a lo anterior, los trasplantes fueron pequeños. Tejidos neuronales obtenidos de embriones de diferentes edades gestacionales que se encuentran entre estos 2 extremos, contienen células neuroepiteliales y neuroblastos preformados en diferentes proporciones (Das y col. 1980). El número de células neuroepiteliales y el número de neuroblastos presentes en los tejidos transplantados determinaron los diferentes tamaños que alcanzaron estos trasplantes. Ni los cerebros de los huéspedes, ni los trasplantes, mostraron ninguna reacción patológica ni crecimiento neoplásico. (Das, 1974).

En otro estudio, los mismos autores analizaron el crecimiento de trasplantes neurales en relación a la edad de los huéspedes y el sitio del trasplante (figura 2). Específicamente investigaron la influencia de estos parámetros del huésped sobre el crecimiento de trasplantes neurales con un alto potencial de crecimiento (15 días) y bajo potencial (18 días). Obtuvieron un volumen constante de tejido cortical de fetos de 15 y 18 días de gestación, y lo transplantaron dentro del cerebro anterior o dentro del cerebelo de ratas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 180 días de nacidas. Después de 90 días de realizada la cirugía los investigadores analizaron cuantitativa y cualitativamente el trasplante (Hallas y col. 1980).

Los trasplantes crecieron más, es decir ocuparon más volumen cuando fueron transplantados en el cerebelo, que cuando fueron transplantados en la región del cerebro anterior de los huéspedes lo cual fue observado en las ratas de todas las edades. Tanto en el cerebro anterior como en el cerebelo, el tejido obtenido de embriones de 15 días creció más que el tejido obtenido de embriones de 18 días. Los trasplantes de embriones de 15 días, crecieron más en los animales huéspedes de 5 días de nacidos (33 veces su tamaño original en el cerebelo y 23 veces en la región del cerebro anterior). En animales más viejos crecieron menos y sin alguna variación en el tamaño que pudiera ser atribuida a la edad del animal huésped. (Hallas y col. 1980).

El tejido de embriones de 18 días creció poco



**Figura 2.-** Dibújos de secciones sagitales de cerebros huéspedes de diferentes edades, mostrando el tamaño final del trasplante cortical en el cerebelo, cuando el tejido se tomo de 15 y 18 días de gestación (A). Gráfica que relaciona la edad de los huéspedes con el volúmen total de crecimiento del tejido tomado de 15 y 18 días de gestación (B). (Tomado de Hailas y col., 1980).

independientemente del sitio del trasplante o de la edad del huésped. Aparentemente la edad del huésped y el sitio del trasplante influyen en el crecimiento de los trasplantes neurales que tienen un alto potencial de crecimiento, a diferencia de los trasplantes que tienen poco potencial de desarrollo.

Como ya se mencionó, una gran variedad de experimentos han demostrado que los trasplantes intracerebrales dentro y fuera del parénquima cerebral son viables. Sin embargo, la mayoría de estos experimentos son hechos con sujetos de la misma especie, donde las diferencias del complejo mayor de histocompatibilidad no son tan significativas como entre diferentes géneros. Recientemente se han realizado trasplantes de una especie a otra, generalmente entre el ratón-rata, con el objetivo de probar la posibilidad de que el injerto sobreviva.

Brundin y col. probaron el grado de rechazo de trasplantes de sustancia nigra de fetos de ratón al transplantar dicho tejido al estriado de ratas con y sin inyecciones de ciclosporin A, que es una droga inmunosupresora. Sus resultados mostraron que los animales tratados con el inmunosupresor presentan trasplantes similares a los realizados entre ratas de la misma especie, mientras que en los animales sin tratamiento los trasplantes mostraron un menor tamaño, y un menor número de células.

Aunque estos resultados muestran efectos por usar tejido de

diferentes especies, también se han reportado estudios que demuestran la recuperación de conductas de aprendizaje, como la solución de laberintos en donde se transplantó tejido del área septal de ratón al hipocampo de ratas.

Técnicas en el transplante. Los diferentes métodos que se han desarrollado para transplantar tejido neural varían de acuerdo al propósito final de la investigación. Por ejemplo, tejido sólido disectado de una parte apropiada del cerebro embrionario de la rata, puede ser implantado directamente dentro del cerebro del huésped con el fin de estudiar su migración y diferenciación. De una manera alternativa, se puede preparar previamente una cavidad que reciba el tejido en donde los vasos sanguíneos crecerán dentro de las paredes de la cavidad y asegurarán un suplemento sanguíneo adecuado al transplante (Stenevi y Col., 1976). Los experimentos en donde el tejido embrionario es implantado con su organización interna intacta, hacen posible estudiar el crecimiento de fibras a partir del cerebro huésped dentro del transplante (Chang y Col., 1976) una tercera aproximación es menos dañina al cerebro huésped, tejido embrionario es digerido por una enzima y después pasado a través de una serie de pipetas que tengan cada vez menor diámetro con el fin de disociar las células, dando como resultado una suspensión de células aisladas. Las células pueden ser marcadas con radioactividad o teñidas, guardadas o manipuladas de otras formas antes de ser inyectadas cuidadosamente dentro de cualquier sitio en el cerebro del huésped. (figura 3).

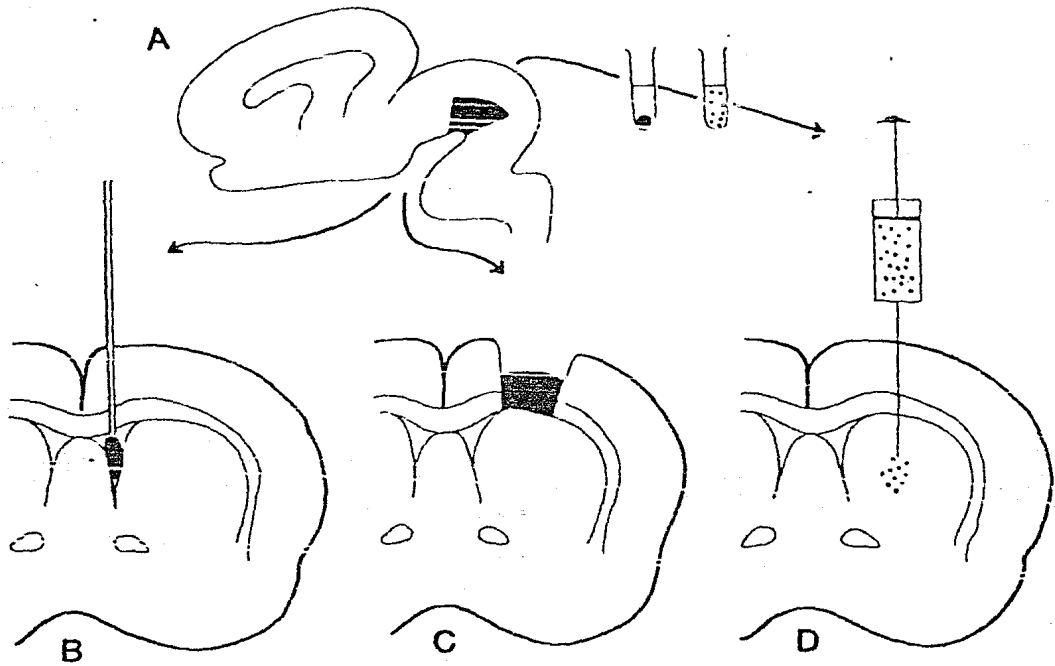


Figura 3.- Diagramas esquemáticos de diferentes procedimientos experimentales para transplantar tejido fetal de sustancia nigra (A) al neostriado previamente denervado de terminales dopaminérgicas en la rata. Transplante vía una cánula en el tercer ventrículo (B), colocación del tejido en una cavidad cortical dorsal al neostriado (C), y colocación por medio de un estereotáxico de células disociadas (D).

### 3. ORGANIZACION DEL TRANSPLANTE.

Los primeros estudios sobre transplantes se centraron en el estudio morfológico, por lo cual se han analizado transplantes de diferentes regiones cerebrales. Las regiones más estudiadas son el tallo cerebral, el hipocampo, el cerebelo y la corteza cerebral. Uno de los estudios más elegantes que se han realizado para estudiar la morfología y la diferenciación final de los transplantes corticales fue realizado en 1965 por S.K. McConnell; en dicho experimento se disecaron células precursoras de la corteza visual de fetos de cuyos, y fueron transplantadas en forma de suspensión, a la zona proliferativa del manto cerebral occipital de animales huéspedes. Las edades de los huéspedes fueron similares a las del donador (1 o 2 días de nacidos).

Previamente a ser transplantadas las células, los donadores del tejido fueron inyectados con timidina tritiada y una sustancia fluorescente con el fin de observar el desarrollo temporal de la migración de las neuronas del donador en la corteza del huésped. Los huéspedes fueron sacrificados a diferentes tiempos a partir del momento del transplante. Se comenzó a sacrificar el primero 2 horas después del injerto, los siguientes sujetos fueron sacrificados a diferentes intervalos de tiempo, hasta que se sacrificó el último dos meses después. El análisis histológico demostró que la secuencia de diferenciación morfológica de las células, y la eventual posición laminar de las



neuronas que fueron injertadas en los huéspedes mediante tranplantes neuronales isocrónicos, son muy parecidos a la secuencia de diferenciación morfológica y a la posición laminar de las neuronas análogas de los huéspedes, es decir, las células transplantadas se diferencian y migran igual que las células homólogas del huésped al ser comparadas con estudios en donde se describe el desarrollo normal. La autora concluye que, al parecer, el proceso del transplante per se no altera el destino de las neuronas corticales en términos de su morfología adulta y su posición laminar final.

De igual manera, Jaeger y Lund (1980) con base en investigaciones que siguen una metodología similar a la anteriormente descrita, proponen que los transplantes de células corticales están compuestos de neuronas generadas antes y después del transplante. Las células precursoras continúan en mitosis siguiendo un esquema que esencialmente semeja la neurogénesis normal.

Para demostrar lo anterior Kromer, Bjorklund y Stenevi (1983), transplantaron tres estructuras con diferente organización neuronal en cavidades previamente hechas en la corteza cerebral, y observaron las características de crecimiento de dichos tejidos. Los tejidos estudiados fueron obtenidos del cerebelo, el tallo cerebral y el hipocampo. De estos estudios morfológicos, se han logrado obtener algunas premisas que hasta el momento parecen ser aplicables a la mayoría de los transplantes. Las

premisas principales son: a) Las células neuroepiteliales de las diversas regiones estudiadas continúan proliferando después de transplantarse al Sistema Nervioso Central, produciendo neuronas con características morfológicas normales; b) Las células que se diferencian antes de que se realice el transplante, son capaces de sobrevivir y mantener el arreglo citoarquitectónico original en su nuevo ambiente; c) Las características de organización intrínseca y de organización tridimensional de las regiones transplantadas pueden desarrollarse aun en un sitio ectopico del SNC adulto.

Sin embargo la organización interna de los transplantes puede ser afectada por una gran cantidad de variables entre las que se encuentran, por ejemplo, las variaciones debidas al procedimiento de disección, las variaciones de volumen de tejido que es implantado en el huésped, la pérdida de aferentes extrínsecas del tejido transplantado debido al daño mecánico que sufre el transplante al ser trasladado del feto al huésped, y por último la edad de gestación del feto donador, lo cual refleja el estado de diferenciación celular de la región que se va a transplantar.

#### 4. CONEXIONES TRANSPLANTE HUESPED

Con el propósito de investigar la capacidad de generación y establecimiento de conexiones entre el transplante y el huésped, Bjorklund y col (1984), han utilizado como modelo las conexiones que presenta el hipocampo. Las vías aferentes del hipocampo, es

decir, las proyecciones que recibe de otras estructuras cerebrales, pueden ser seccionadas selectivamente por el investigador sin dañar la estructura esencial del hipocampo. Los campos terminales de estas aferentes son en su mayoría laminados, por lo que cada sistema aferente presenta un patrón de terminación característico. Para los propósitos de su estudio, estos investigadores lesionaron en dos regiones diferentes del cerebro de ratas, la lesión fimbria-fornix, y la lesión de la vía perforante.

a) La lesión fimbria-fornix elimina las aferentes proyectadas del tallo cerebral que parten del locus coeruleus y el rafe medio, así como las proyecciones del cerebro anterior que parten del área septal media y la banda diagonal de Broca.

b) La lesión de la vía perforante secciona las fibras de la vía perforante que innervan los segmentos dorsales del Hipocampo eliminando así la mayor entrada excitatoria al giro dentado proveniente de la corteza entorrinal.

Los tejidos fetales que usaron fueron (1) del área septal-banda diagonal, que contiene neuronas colinérgicas en desarrollo que normalmente innervan al hipocampo y la neocorteza. (2) tejido de la región del locus coeruleus del puente que inerva noradrenérgicamente al hipocampo y (3) neuronas del rafe del puente y mesencéfalo que innervan con serotonina al hipocampo.

De los resultados obtenidos (figura 4) los autores concluyen que:

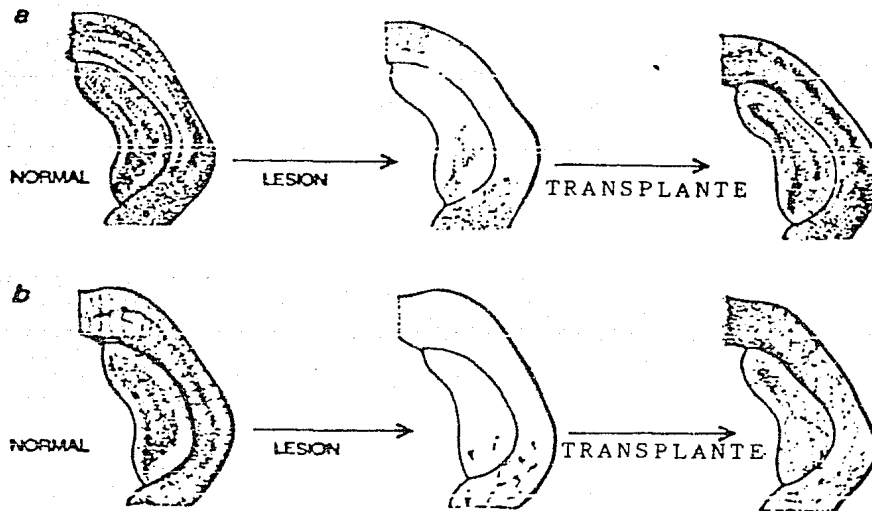
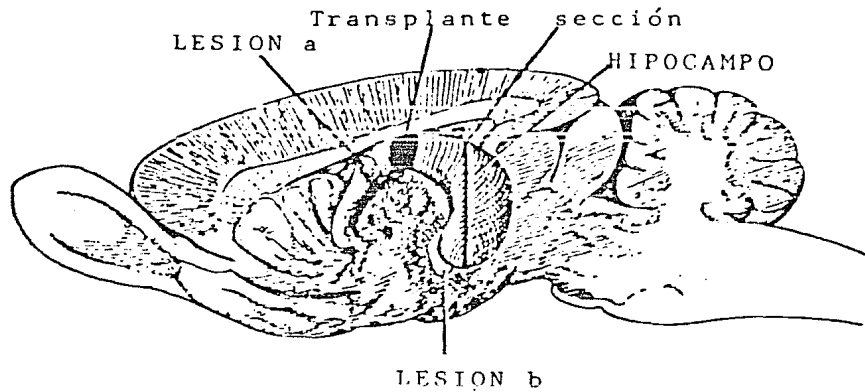


Figura 4.- El restablecimiento de la innervación normal después de transplantar tejido fetal dentro del hipocampo denervado de la rata, es evidente en secciones de cerebro tratadas para distinguir las fibras que contienen tipos particulares de neurotransmisores. El diagrama (arriba) indica la orientación de los cortes y los sitios de manipulación experimental. En a se indica la innervación acetilcolinérgica normal, antes (izquierda) y después (en medio) de cortar las fibras (lesión a) colinérgicas y en la derecha después de implantar tejido rico en acetilcolina (6 meses después). En b se muestra el mismo procedimiento que en a, pero con fibras noradrenérgicas.  
 Tomado de Fine, 1987

- 1.- Diferentes tipos de neuronas que son transplantadas en el área septal, forman patrones de terminación diferentes en el hipocampo.
- 2.- Cuando a los axones en crecimiento se les presenta la posibilidad de escoger entre diferentes campos terminales denervados, los axones muestran una clara preferencia por las zonas denervadas por tipos de fibras homólogas.
- 3.- La presencia o ausencia de la inervación colinérgica intrínseca modifica esencialmente la extensión de crecimiento de axones acetilcolinérgicos en los campos terminales que normalmente reciben inervación del mismo transmisor.

Un enfoque diferente para el estudio de las conexiones que se establecen entre el trasplante y el huésped, es el que han utilizado Lund y col. (Harvey y col. 1981; Lund y col. 1981; Jaeger y Lund, 1980). Este enfoque consiste en colocar neuronas que pertenecen a regiones del sistema visual en lugares ectópicos y observar si se logran conexiones o no, ya sea con regiones del mismo sistema visual, o con otras. Cuando se colocan neuronas de la corteza visual, tectum óptico o retina de fetos de 13 a 19 días de gestación sobre del colículo superior de neonatos, se observan diferentes patrones de aferencias al trasplante; estos diferentes patrones de terminación dependen del lugar de origen de las neuronas transplantadas. Los trasplantes del tectum reciben aferentes únicamente de aquellas regiones cerebrales del huésped que inervan normalmente al colículo superior, mostrando estas proyecciones una especificidad en los patrones de

terminación que dependen de la estructura que las proyecta, vgr la retina, la corteza visual, etc.

Las proyecciones que recibieron los transplantes de corteza visual fueron menores que las proyecciones que recibió el tectum, y por último observaron que la retina transplantada no recibió ninguna aferencia (Mc Loon y Lund, 1984).

Siguiendo el mismo procedimiento, McLoon y Lund (1980) han estudiado las eferentes del transplante al huésped. Los autores encontraron que cada tejido establece las conexiones apropiadas dependiendo de su sitio de origen. Las retinas transplantadas proyectan únicamente a aquellas áreas del cerebro del huésped que son normalmente retinoreceptivas; dentro de estas áreas se encontraron inervaciones al colículo superior, al pretectum y al cuerpo geniculado lateral. Las proyecciones eferentes de los transplantes de tejido tomado del tectum óptico, terminaron principalmente en el colículo superior del huésped, aunque también proyectan a la sustancia gris central y al tegmentum del mesencéfalo (Steedman y col. 1983). La corteza visual proyectó sus eferencias al colículo superior, al pretectum y al núcleo talámico posterior, pero a diferencia de la retina y el tectum, también proyecta terminales, por ejemplo, a la sustancia gris central, a la cual no inerva normalmente, lo cual demuestra cierto grado de inespecificidad en este tipo de transplantes.

## 5. RECUPERACION FUNCIONAL

### a) Estudios electrofisiológicos.

Se ha observado que al injertar una retina directamente por encima del tectum óptico del huésped, la retina establece patrones de conexión muy parecidos a las conexiones que normalmente dirige desde su localización en el globo ocular (Mc Loon y Lund 1980).

Lund y col (1985) transplantaron retinas fetales en el tectum óptico con el fin de examinar la posibilidad de estimular con electrones o con fotones la retina injertada. Al estimular con luz las retinas transplantadas, los investigadores encontraron que 10 de 12 de ellas formaron potenciales de onda corta en sus conexiones con el tectum óptico, siendo la forma de la onda similar a un electroretinograma (ERG) obtenido de un ojo normal. Esto demuestra que trasplantes de retina responden a la luz.

Siguiendo esta misma línea de investigación, los autores transplantaron retina sobre la parte rostral del cerebelo. Al estimular el trasplante, efectuaron registros en el colículo superior y encontraron que éste mostró actividad unitaria y ondas cortas. Las respuestas unitarias mostraron fatiga rápidamente. Estos resultados sugieren que las respuestas encontradas en el tectum reflejan una mediación sináptica de las aferentes que reciben por parte de los trasplantes de retina. Los autores concluyen que la luz es capaz de estimular la retina transplantada y ésta a su vez, es capaz de dirigir estímulos y

obtener una respuesta del tectum óptico (Freed y Wyatt 1980).

En el modelo de trasplantes en el hipocampo, también se realizaron experimentos en los que se estimuló eléctricamente a trasplantes de locus coeruleus y área septal que normalmente inervan al hipocampo huésped. Los registros indican que las conexiones muestran fatiga en la respuesta a la estimulación, por lo que de estos experimentos se establece que estas conexiones son sinápticas (Bjorklund y col. 1979).

#### b) Estudios bioquímicos.

Bjorklund y col. (1983) , implantaron neuronas fetales tomadas de área septal en hipocampos denervados previamente. Con el fin de analizar el curso temporal y la magnitud del crecimiento de las fibras, midieron la actividad de la colin-acetiltransferasa (CAT), que es una enzima que sintetiza acetilcolina y está localizada exclusivamente en neuronas colinérgicas. Los resultados mostraron que a los 10 días post-transplante, la actividad de la CAT fue apenas detectable en el transplante, al mes se encontró un notable incremento de CAT en el hipocampo adyacente al transplante, y a los seis meses la actividad de de la CAT en el previamente denervado hipocampo estaba restaurada a niveles cercanos al normal.

Por otra parte, en estudios en que se utilizó (14)-2-deoxiglucosa (2-DG), Kelly y col. (1985) encontraron que seis meses después de haber lesionado unilateralmente la



fimbria-fornix, hubo una gran disminución en la utilización de 2-DG del hipocampo. Los autores concluyen que esta disminución es debida a un decremento en la actividad neuronal, que es consecuencia de la desaferenciación de terminales sinápticas.

Ratas que recibieron trasplantes colinérgicos en el hipocampo mostraron un incremento significativo en el uso de 2-DG comparado con las ratas únicamente lesionadas. Además, los cambios en la utilización de 2-DG, fueron relacionados con la densidad de acetilcolinesterasa en cortes adyacentes a los de la medición de 2-DG de los mismos cerebros. Estos resultados muestran una correlación entre la inervación colinérgica de los trasplantes septales y la restauración del consumo de glucosa. Como conclusión de dichos resultados se puede postular que las sinapsis que establecen los trasplantes en este caso, son sinapsis funcionales, que ejercen un efecto positivo sobre las neuronas hipocampales del huésped.

Es conocido que la sustancia nigra es una estructura del cerebro que maneja principalmente como neurotransmisor putativo a la dopamina. Una de las vías dopaminérgicas más importantes va de la sustancia nigra al cuerpo estriado en la rata, a esta vía se le conoce como vía nigrostriatal. La lesión de la sustancia nigra produce la depleción de dopamina en el estriado, dando como resultado severos daños conductuales (Yoshida, M. 1974). Sin embargo, se ha demostrado que trasplantes tanto de la sustancia nigra como de células cromafines de las glándulas suprarrenales, son capaces de producir un incremento significativo en los

niveles de dopamina en el estriado, llevándolos a niveles cercanos de los normales (Schmidt y col. 1982; Bjorklund y col. 1981). En un estudio Schmidt (1982) encontró que la actividad metabólica general del trasplante, medido por autoradiografías de 2-DG, se encontraba cerca de la que muestra normalmente la sustancia nigra in situ, es decir, las variaciones de actividad debidas al cambio de ambiente fueron prácticamente nulas.

El núcleo basalis magnocelularis se encuentra en la parte ventral del cerebro anterior de las ratas, y es el homólogo al núcleo de Meynert en los primates. Este núcleo envía eferencias colinérgicas a la neocorteza, siendo estas aferencias una de las causas principales del alto contenido de acetilcolina en la corteza. Lesiones unilaterales realizadas con ácido iboténico, el cual se supone lesiona únicamente células, en el núcleo basalis magnocelularis de ratas, producen una depleción aproximadamente del 60 % de la CAT en la corteza frontal. Al transplantar neuronas de la parte ventral del cerebro anterior de embriones de ratas a la neocorteza denervada, las neuronas transplantadas son capaces de sobrevivir en su nuevo habitat. Dentro de estos trasplantes abundan las células colinérgicas, que son capaces de reinervar a la corteza del huésped. Lo anterior fue demostrado por métodos histoquímicos, registrando la CAT mediante anticuerpos marcados dirigidos específicamente a la enzima; por otro lado, también se efectuó la medición de la actividad de la CAT, (Dunnet y col. 1985).

c) Recuperación conductual.

Es conocido que lesiones bilaterales de la fimbria-fornix en ratas dan lugar a severas deficiencias en el tipo de memoria conocida como la memoria de trabajo ("working memory") (Olton y col. 1979). Estas deficiencias también pueden ser obtenidas mediante bloqueo farmacológico de la transmisión en varias regiones cerebrales (Sutherland y col. 1982). Empleando pruebas de diferentes tipos con las que se pueden cuantificar diferentes clases de conductas de aprendizaje y memoria, algunos investigadores han demostrado que es posible revertir este tipo de deficiencias conductuales mediante el trasplante de tejido fetal obtenido del área septal.

En una prueba de laberinto radial de 8 brazos (Low y col. 1982), ratas con trasplantes en área septal que fueron lesionadas previamente, mostraron una tendencia a la recuperación, pero su ejecución no fue significativamente diferente a la de ratas lesionadas sin trasplantes. Sin embargo, si se aumenta la transmisión colinérgica en las sinapsis trasplante-huésped mediante la aplicación de fisostigmina (la cual bloquea a la enzima que degrada a la acetilcolina con el consecuente aumento de acetilcolina), se produce una mejoría significativa en la ejecución del laberinto por el grupo trasplantado, pero no por el grupo lesionado. En algunos casos las ratas trasplantadas realizaron la tarea del laberinto tan bien como el control sin lesión.

En otro estudio Dunnett y col. (1982), sometieron a 4 grupos de ratas a una prueba de laberinto en T con elección alternada.

Dos grupos de ratas fueron lesionados en la fimbria fornix. De estos grupos uno recibió trasplante de tejido sólido tomado de área septal (n=9), y otro recibió el trasplante en forma de suspensión también del área septal. En el grupo con trasplantes sólidos de septum, 7 de las 9 ratas aprendieron la tarea, de igual manera, 4 de 5 ratas con trasplantes en forma de suspensión también aprendieron la tarea, algunas de ellas aun mejor que los controles. El resto de las ratas que recibieron trasplantes del área septal, dos con trasplantes sólidos y uno en forma de suspensión, y un grupo separado de trasplantes de locus coeruleus, realizaron la tarea al nivel del azar, similar a las ratas que únicamente fueron lesionadas en la fimbria-fornix y que no recibieron trasplante (figura 5). En este estudio hubo una correlación significativa entre la ejecución exitosa de la tarea por las ratas transplantadas y la cantidad de acetilcolina encontrada en el trasplante injertado en el hipocampo denervado previamente.

En conjunto, estos estudios sugieren fuertemente que los trasplantes pueden disminuir parcialmente las deficiencias inducidas en el aprendizaje que resultan de las lesiones fimbria fornix. Además, también muestran la especificidad que desarrollan los trasplantes del área septal, ya que reinervan específicamente con terminales colinérgicas al hipocampo previamente denervado.

La 6-hidroxiopamina (6-OHDA) es una droga que lesiona las neuronas dopaminérgicas. Lesiones unilaterales realizadas con

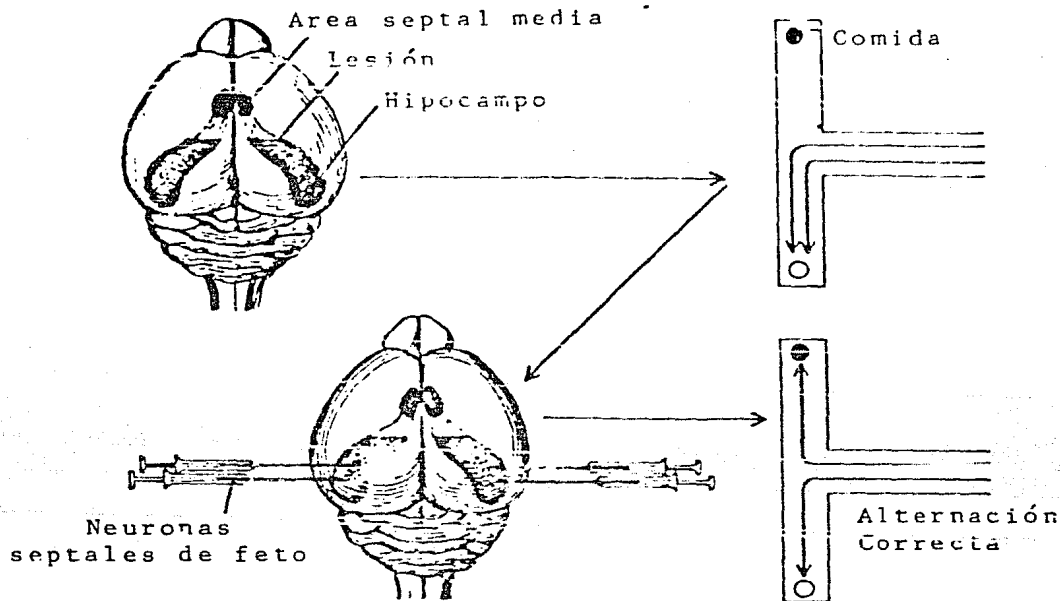


Figura 5.- Cuando se secciona la vía septo-hipocampal, el hipocampo pierde la entrada de axones acetilcolinérgicos del septum. Mientras que ratas normales pueden ser entrenadas con estímulos alimenticios para entrar a los brazos opuestos de un laberinto de T, en una alternación estricta, ratas con lesión de la vía septo-hipocampal no aprenden a alternar, sino que entran al azar. Bjorklund y col. encontraron que cuando neuronas fetales tomadas de area septal son inyectadas dentro del hipocampo de las ratas lesionadas, estas pueden aprender a alternar nuevamente. (Tomado de Fine, 1987).

6-OHDA en la sustancia nigra destruyen una de las vías dopaminérgicas ascendentes. La destrucción de esta vía produce una profunda asimetría conductual, caracterizada por un desequilibrio postural y la desensibilización de todos los estímulos al lado contralateral del cuerpo (Marshall y col. 1974). Esta asimetría se incrementa cuando las ratas son inyectadas con drogas dopaminérgicas como las anfetaminas, que estimulan la liberación de dopamina en el estriado solamente en el lado intacto, induciendo un fuerte giro hacia el lado de la lesión (rotación ipsilateral), o apomorfina que activa principalmente a los receptores dopaminérgicos hipersensibilizados del estriado lesionado, para inducir una fuerte rotación hacia la dirección opuesta (rotación contralateral). Perlow y col. (1979) adoptaron este modelo conductual en ratas con trasplantes de la SN que se encuentran reinervando el estriado denervado, con el fin de investigar la habilidad de dichos trasplantes para revertir algunos aspectos de esta asimetría conductual

El procedimiento de trasplante que siguieron consistió en insertar piezas de tejido nigral embrionario, vía una cánula de acero, dentro del ventrículo lateral adyacente al estriado lesionado. Después del trasplante, los investigadores monitorearon los giros contralaterales inducidos por apomorfina y observaron una disminución del 40 al 50%. Esta disminución no se observó en las ratas que fueron únicamente lesionadas, o que recibieron trasplantes de nervio ciático, lo que sugiere que los trasplantes ricos en dopamina como lo son los de sustancia nigra, son capaces de revertir algunos tipos de deficiencias

## Conductuales.

Un procedimiento diferente consiste en preparar una cavidad en la corteza para exponer la superficie dorsal del estriado (núcleo caudado y putamen); una vez preparada la cavidad se coloca tejido obtenido de la región de la SN de fetos. Usando este procedimiento Bjorklund y col. (1980) encontraron mejoras conductuales similares a las encontradas por Perlow en el giro inducido por apomorfina (figura 6). Además, Bjorklund y col. muestran que la rotación inducida por anfetamina puede ser completamente compensada, ya que la mayoría de las ratas transplantadas no muestran desviaciones asimétricas del todo (figura 7).

La disminución en la rotación de las ratas inducida por la inyección de apomorfina no muestra una clara relación con la fluorescencia obtenida en la histología, siendo esta fluorescencia debida al crecimiento de fibras dopaminérgicas del trasplante dentro del estriado previamente denervado. Por otro lado, la compensación de la rotación debida a la inyección de anfetamina, está muy relacionada con el aumento de fluorescencia, el cual ya ha sido confirmado por métodos bioquímicos (Schmidt y col. 1981; Schmidt y col. 1982).

En un estudio reciente Labbe y col. (1983) realizaron un experimento con el objeto de observar la capacidad de recuperación conductual, debida a trasplantes, en animales lesionados en la corteza frontal. En dicho experimento,

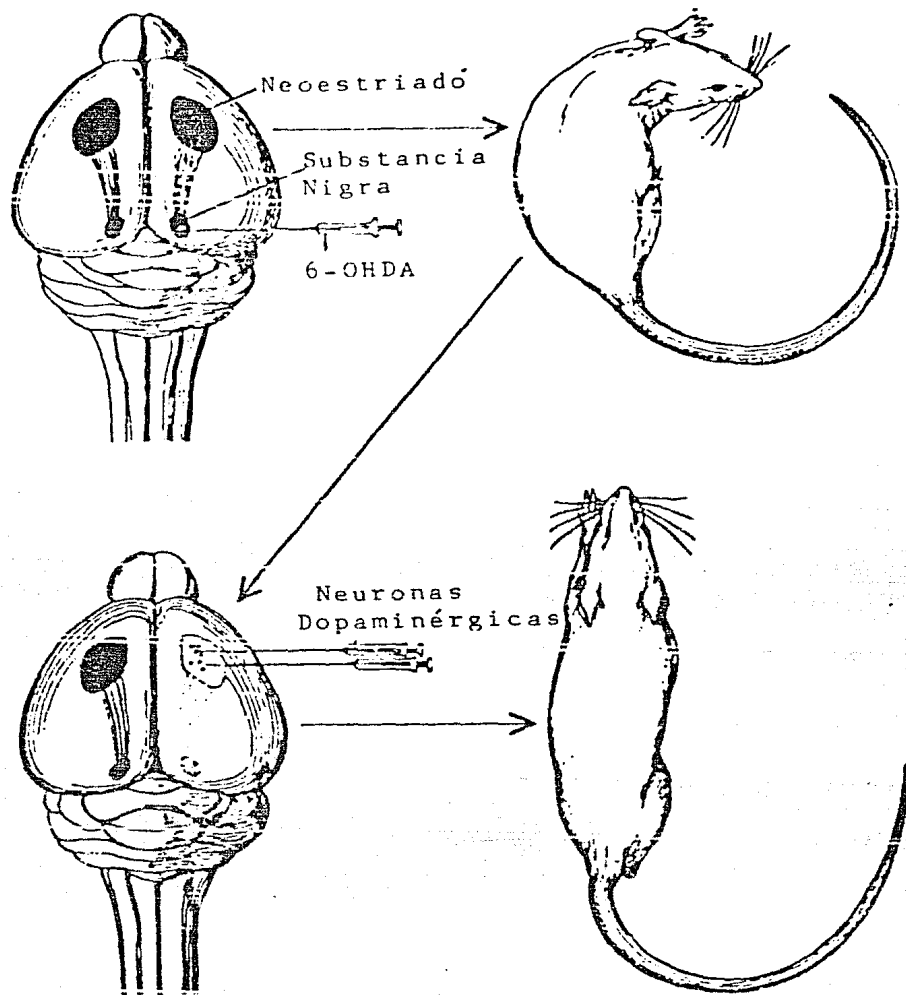


Figura 6.- La inyección de la toxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA) destruye a las células dopaminérgicas de la sustancia nigra, eliminando a los axones dopaminérgicos que inervan al estriado. Cuando la inyección de 6-OHDA es unilateral en la sustancia nigra, las ratas desarrollan una asimetría postural y de movimiento, girando espontáneamente hacia el lado inyectado. Freed y col, y Bjorklun y col, han encontrado que el transplante de neuronas dopaminérgicas tomadas de embriones de ratas, y llevadas al estriado denervado, eliminan los movimientos asimétricos. (Fine 1987).



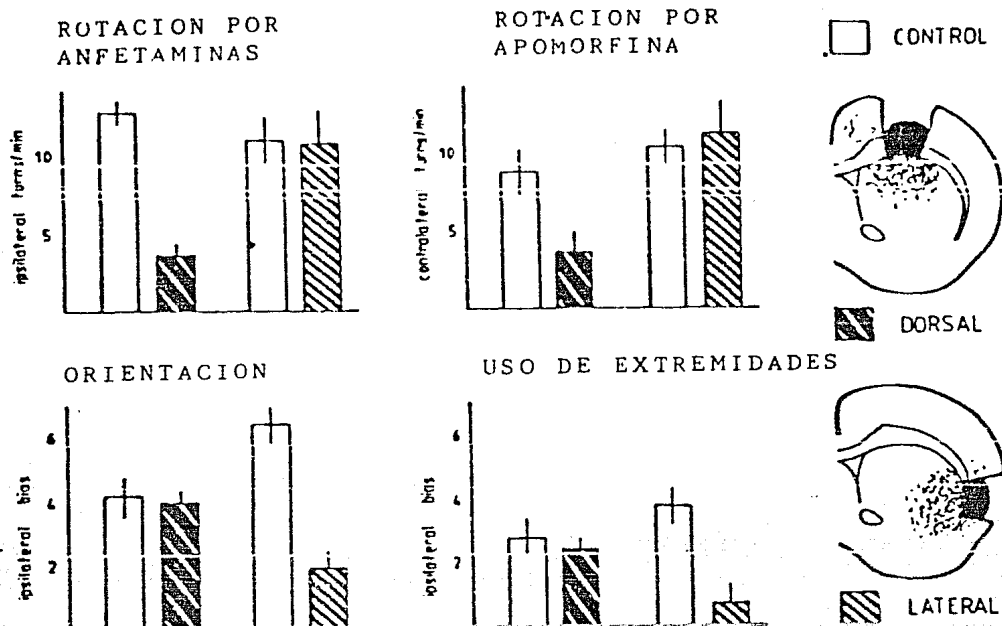


Figura 7.- Consecuencias funcionales de transplantes de la sustancia nigra que reinervan el estriado dorsal (arriba) o el estriado ventrolateral, en ratas con denervación dopaminérgica unilateral. En las 2 pruebas de rotación, únicamente los transplantes dorsales resultaron en la reducción de las asimetrías conductuales inducidas por la lesión (arriba); mientras que en las 2 pruebas sensorimotoras, sólo los transplantes ventrolaterales produjeron recuperación. (Dunnett y col. 1983).

transplantaron corteza frontal y cerebelo de embriones de 22 días a cavidades realizadas previamente en la corteza frontal de ratas. La prueba se realizó en un laberinto en forma de T en donde de manera alternada se colocó como reforzador, agua en un brazo, y en el otro no. Al finalizar el experimento, encontraron que los trasplantes de corteza frontal, pero no los de cerebelo, redujeron significativamente el número de ensayos requeridos para alcanzar el criterio establecido como medida de aprendizaje. Cuando se inyectó peroxidasa de rabano (HRP) a los trasplantes, se encontraron rastros de HRP en la corteza adyacente y en el tálamo medio dorsal y anterior; estas áreas son inervadas normalmente por la corteza frontal. Los trasplantes de tejido cortical sobrevivieron, aunque en las fotografías histológicas de su reporte el tejido se ve francamente deteriorado.

Siguiendo la misma línea de investigación, estos autores lesionaron dos grupos de ratas en la corteza occipital, en uno transplantaron tejido de la corteza occipital y en el otro transplantaron tejido de la corteza frontal. Ambos tipos de tejidos fueron obtenidos de fetos de 22 días de gestación. Los dos grupos fueron sometidos a pruebas de discriminación visual. Sorprendentemente encontraron que los trasplantes de corteza frontal, pero no los de corteza occipital, facilitaron el aprendizaje de una tarea de discriminación de brillo. Los autores proponen que no es necesario una gran especificidad en el tejido fetal para promover una recuperación funcional (Stein y col. 1985). Sin embargo sus resultados son muy cuestionables ya que los fetos se encuentran en un estado de diferenciación muy

avanzado y es improbable observar un desarrollo del tejido neuronal en embriones de esa edad.

La corteza cerebral, la cual es afectada en la enfermedad de Alzheimer, obtiene su principal aferencia de acetilcolina a partir del núcleo basalis de Meyner, o núcleo basalis magnocelularis. En la enfermedad de Alzheimer degeneran las células de este núcleo. Para analizar esta característica de la enfermedad, Dunnett y col. (1985) inyectaron ácido iboténico en la base del cerebro anterior, que es la región donde se encuentra el núcleo basalis magnocelularis. La toxina destruye las neuronas pero deja las fibras nerviosas que atraviesan el área inyectada, eliminando permanentemente la entrada de acetilcolina que parte del núcleo basalis magnocelularis a la corteza en el lado inyectado. Este tipo de lesiones da como resultado asimetrías tanto sensoriales como motoras, junto con serias deficiencias en la habilidad de la rata para aprender y recordar tareas sencillas, tales como evitar una cámara oscura en un laberinto con 2 cámaras, o encontrar una plataforma sumergida en una fosa con agua.

Las neuronas del núcleo basalis magnocelularis están mezcladas con otras estructuras cerebrales, por lo que el ácido iboténico destruye inevitablemente células que envían fibras a otras partes del cerebro diferentes de la corteza. Como resultado de lo anterior, no es muy claro si las deficiencias encontradas en las ratas sean exclusivamente debidas a la lesión del núcleo basalis magnocelularis. Sin embargo Dunnett y col. encontraron

que trasplantes de células tomadas de la región precursora del núcleo basalis magnocelularis implantadas directamente en la corteza denervada restauraron la memoria espacial al nivel normal, aunque las ratas transplantadas aun aprendieron sus tareas más lentamente que las normales. Los trasplantes también corrigieron asimetrías en movimiento pero no revirtieron las deficiencias sensoriales. Trasplantes del NBM al hipocampo, no tuvieron efectos en la realización de las pruebas (figura 8).

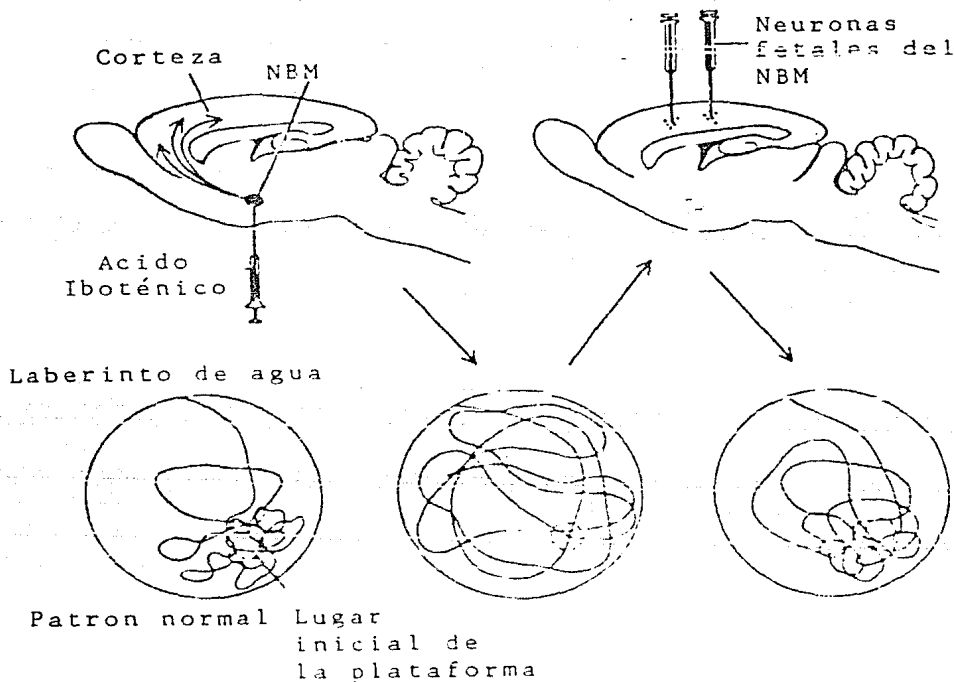


Figura 8.- Cuando se destruye con ácido Iboténico el núcleo basalis magnocelularis, se pierden las proyecciones acetilcolinérgicas que van de este núcleo a la corteza. Una prueba de laberinto de agua revela que existe una deficiencia en la memoria. Una ratona normal, entrenada para encontrar una plataforma sumergida, nadara sobre el sitio donde se encontraba la plataforma aunque esta haya sido removida. El camino que sigue una ratona lesionada, sugiere que el animal no recuerda la posición original de la plataforma. Después del trasplante de células embrionarias del núcleo basalis a la corteza, esas ratonas pueden ser nuevamente entrenadas para recordar el sitio original de la plataforma.

## CAPITULO II

## 1. El condicionamiento aversivo a los sabores.

Las plantas son capaces de producir sus alimentos a partir de materia inorgánica, por lo que son la base de muchas cadenas alimenticias, principalmente en las que están involucrados los animales; es decir, cualquier animal requiere de las plantas directa o indirectamente, para poder sobrevivir. Los animales poseen los mecanismos digestivos necesarios para poder procesar la materia orgánica obtenida de las plantas e incorporarla a su organismo. A lo largo de la evolución, en algunas plantas se desarrollaron sustancias que independientemente de su función intrínseca, pueden producir malestares e incluso la muerte a los animales que las ingieran. A su vez, en los animales se desarrollaron mecanismos que les permiten sobrevivir a la ingestión de dichas sustancias, e inclusive reconocer a las plantas que las producen. Uno de estos mecanismos es el aprendizaje (Bermudez-Rattoni, 1986).

Una condición esencial para la supervivencia de cualquier organismo es su capacidad para obtener la suficiente comida de una composición adecuada. Una multitud de conductas innatas y adquiridas permiten a los organismos superiores reconocer sustancias nutritivas y/o venenosas. Así, los animales son capaces de seleccionar de entre toda una gama de alimentos, aquéllos que les proporcionen una dieta balanceada que

contenga minerales, vitaminas y aminoácidos esenciales. Los experimentos de selección de alimentos indican la injerencia de procesos de aprendizaje que relacionan la información acerca de las propiedades sensoriales de la comida con las subsecuentes consecuencias de su ingestión (Richter, 1943; Domjan, 1977).

La selección de la dieta óptima es llevada a cabo por un sistema de reacciones que se desarrollan ordenadamente. Primero, para proteger al animal contra sustancias de un gusto desagradable que pudiesen producir daño al tracto digestivo, se lleva a cabo la irritación de las membranas mucosas, que es el resultado de un reflejo incondicionado disparado por receptores en la cavidad oral.

Un sistema más elaborado de protección al animal, es representado por la evaluación anticipatoria de las probables consecuencias de ingestión de un alimento en particular. Las dietas familiares son aceptadas o rechazadas de acuerdo con su experiencia previa (Domjan, 1975; 1977).

De acuerdo con lo anterior, un estímulo gustativo (cualquier alimento), que es presentado por primera vez, da lugar a la manifestación de la neofobia que se refleja en el consumo de pequeñas cantidades de alimento en relativamente largos intervalos de tiempo. La razón de esto quizás tenga un origen evolutivo. Por ejemplo, si un animal consume grandes cantidades de un alimento novedoso que resulta tóxico, y muere, las

posibilidades de que este animal tuviera descendencia, disminuyen. Por otro lado, si un animal tiende a consumir poco de el alimento novedoso, y esta cantidad no pasa de producir una fuerte irritación gástrica, este sujeto tiene más probabilidades de tener descendencia.

La identificación de un estímulo gustativo como un estímulo novedoso implica que es comparado con la memoria de estímulos ya conocidos y puede, por lo tanto, ser considerado como una manifestación del proceso de manejo de información adquirida por el sujeto a lo largo de su historia (Bures y Buresova, 1976).

Para que la comida que es por primera vez degustada sea evaluada, se requiere que sus propiedades sensoriales (generalmente el gusto) sean guardadas en un archivo de memoria de corto plazo hasta que se complete su clasificación. Posteriormente se desarrolla un marcaje positivo o neutral de un sabor particular hasta después de varias horas de entrada visceral que señalen el funcionamiento normal del sistema gastrointestinal. Cuando la ingestión de alimento es seguida en un intervalo de horas por síntomas de envenenamiento visceral, entonces se desarrolla un marcaje negativo manifestado subsecuentemente por la aversión al gusto correspondiente. Esto es conocido como el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) (García y Koelling, 1966).

Desde un punto de vista hedónico, el estímulo gustativo

puede ser positivo (aceptado) o negativo (rechazado). Así, las propiedades hedónicas de cualquier estímulo gustativo en particular, pueden ser determinadas para un organismo intacto simplemente observando si el animal acepta o rechaza la sustancia, y esto se hace midiendo el consumo de esta sustancia por el animal (Kriekhaus y Wolf, 1968.)

Para desarrollar los modelos que se siguen en este tipo de investigación, primero se determina una línea basal de consumo (generalmente agua y comida), y después se compara con el consumo del estímulo gustativo (disuelto en una solución acuosa). Si existe preferencia, la ingesta sobrepasará a la línea base, y por el contrario, si existe rechazo, el consumo será menor que la línea base, es decir el animal tendrá aversión a ese gusto (García y col., 1986).

La integración de la preferencia o rechazo de un determinado estímulo gustativo parece ser llevado a cabo en el tallo cerebral. Esto ha sido demostrado en experimentos realizados por Grill y Nørgren (1978) en donde se utilizaron ratas descerebradas. Como los sujetos en estas condiciones presentan un número muy restringido de conductas, los investigadores registraron en video los movimientos bucales en respuesta a sustancias gustativas directamente aplicadas en la lengua. Así, por ejemplo, sustancias dulces producen lengüeteo y movimientos laterales de la lengua que resultan en la ingesta, mientras que la aplicación de sustancias amargas resultan en rechazo, lo que



es indicado porque la rata saca la lengua y abre la boca para que la sustancia se escurra hacia afuera. Las ratas no lesionadas, normalmente presentan un patrón de conducta muy similar al de las descerebradas cuando se les presentan los diferentes estímulos gustativos (aversivos y preferentes). Estas pruebas han sido utilizadas para demostrar que los mecanismos del tallo cerebral son suficientes para que un animal demuestre respuestas normales a los estímulos gustativos.

Los primeros estudios acerca de la aversión a los sabores se relacionaron con las investigaciones de los efectos que las radiaciones tienen en los organismos. Estos estudios mostraron que cuando a un animal se le permite ingerir una sustancia, como una solución de sacarina o sacarosa, y al mismo tiempo se expone a los rayos "X" durante varios ensayos, los animales decrementan el consumo de dicho alimento cuando se les ofrece en ocasiones futuras, aun y cuando el malestar producido por las radiaciones no ocurriese hasta varias horas después. Cabe notar que los animales expuestos a los rayos "X" presentan una irritación de las mucosas gástricas, lo que puede ser asociado con malestar interno (García, 1956).

Uno de los hallazgos más importantes dentro del campo de los hábitos alimenticios, fue publicado en 1955 por García y Koelling. En este experimento se encontró que los animales no consumieron agua con sabor (una solución de sacarina) cuando la solución fue seguida, ya sea por rayos X o por una dosis subletal

de cloruro de litio. Por el contrario, las ratas sí consumieron cantidades normales de agua "brillante y ruidosa" ( cada vez que el animal lengüeteaba para obtener el líquido, una luz parpadecía y se escuchaba un click), cuando era seguida de radiación o envenenamiento con LiCl.

Aparentemente la asociación de los estímulos gustativos únicamente se lleva a cabo con la irritación gástrica, y es incapaz de producir aprendizaje con estímulos visuales o auditivos. En este estudio Garcia y Koelling también investigaron la efectividad de estos dos estímulos (gustativo y audiovisual) cuando se aplicó un shock de 2 seg después de iniciado el consumo del líquido. Encontraron que el shock suprimió la ingesta de el agua brillante y ruidosa, pero no suprimió la ingesta del agua con sabor. Lo que al parecer indica que los estímulos gustatorios son asociados selectivamente con el efecto interno como es el malestar acarreado por el envenenamiento, mientras que el estímulo audiovisual es selectivamente asociado con eventos externos aversivos, como la descarga eléctrica. Al parecer, los estímulos gustativos no pueden ser asociados con consecuencias exteroceptivas, como una descarga eléctrica y, por otro lado, los estímulos audiovisuales no pueden ser asociados con consecuencias de malestar interno como la irritación gástrica (García y col., 1986).

### 3. NEUROANATOMIA GUSTATORIA

Los estudios mencionados han servido como incentivo para la búsqueda de las vías gustativas (Norgren, 1977). En los mamíferos las papilas gustativas se encuentran en la cavidad oral, la faringe y la laringe. Los receptores gustativos de la parte anterior de la lengua y el paladar son inervados por la chorda timpani y el nervio petroso, respectivamente, que entran al bulbo raquídeo vía el nervio intermedio, que es la división visceral aferente del nervio facial. La parte posterior de la lengua es inervada por una rama del nervio glossofaríngeo (IX), y por una del nervio vago (X). Estos nervios aferentes gustativos terminan en la división lateral del núcleo del tracto solitario (NTS). En algunas especies las aferentes gustativas pueden ascender a través del bulbo y terminar en la región caudal del puente (Norgren y Leonard, 1973; Martin y col., 1978).

Los axones de las neuronas gustativas secundarias del núcleo solitario ascienden ipsilateralmente por la formación reticular hasta alcanzar el núcleo trigeminal motor, y de allí pasan a través del área supratrigeminal y terminan en el brachium conjunctivum. Dentro de esta área, el núcleo parabraqüial (NPB) es el que recibe las principales aferencias. Partiendo del NPB las neuronas gustativas proyectan ipsilateralmente por la comisura tegmental central, al complejo ventrobasal postero medial (VPM) del tálamo. Una vez en el tálamo existe una gran proyección a la región homóloga del tálamo contralateral. Del VPM parten fibras que se proyectan a la neocorteza gustativa (NG) que en la rata se encuentra en la región anterolateral de la

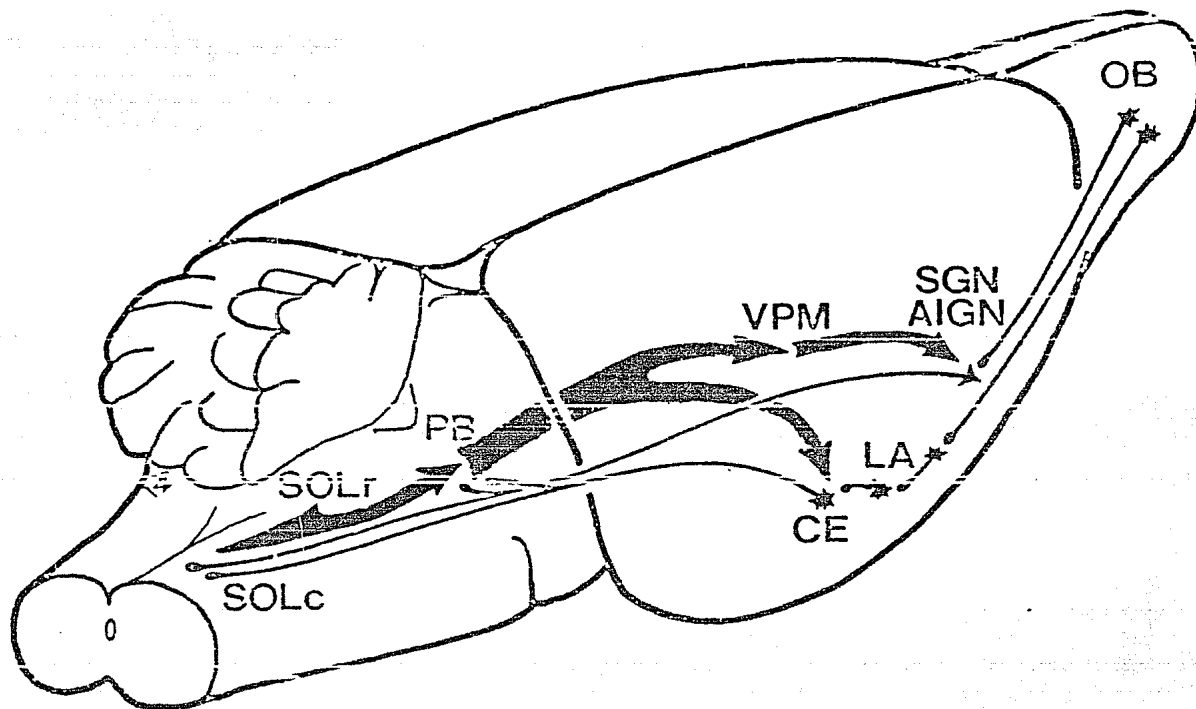


Figura 9.- Posibles substratos del aprendizaje del CTA que envuelven los diferentes núcleos de relevo de información gustativa que van del tallo cerebral al tálamo, la amígdala y a la neocorteza gustativa entre otros. SOL: núcleo del tracto solitario; PB: núcleo parabraquial; VPM: núcleo ventro postero medial del tálamo; CE: núcleo central de la amígdala; LA: núcleo lateral de la amígdala; AIGN: Corteza gustatoria; OB: Bulbo olfatorio.

corteza, precisamente en la unión de la arteria cerebral media y el surco rinal (Lasiter, 1985) (figura 10).

Las aferentes gustativas, también ascienden por otra vía diferente a la tálamo-cortical. Axones de la misma población de neuronas del puente que proyectan al tálamo gustativo, ascienden a través del subtálamo y después de mandar colaterales dentro del hipotálamo lateral, atraviesan la cápsula interna. Estos fascículos se ramifican y pasan por la sustancia innominata, y se extienden lateralmente en la amígdala anterior, donde aparentemente terminan en el núcleo central amigdalino (NCA). Existe otra zona terminal que es el núcleo basal de la stria terminalis, que se comunica con el NCA por medio de la stria terminalis (Kiefer, 1986).

### 3. NEUROANATOMIA DE LA INTOXICACION

En especies capaces de vomitar, el vómito es producido por la estimulación del centro emético, que es un área en la formación reticular lateral adyacente al núcleo solitario (Borison y Wang, 1956). Existen 2 entradas importantes al centro emético, es decir 2 modos de desatar el mecanismo vomitivo. Uno lleva la información de malestar gástrico por el nervio vago, que proyecta y hace sinapsis con la región caudal del núcleo solitario. Presumiblemente, después esta información alcanza el centro emético y dispara el reflejo. La segunda entrada es por medio del torrente sanguíneo. Las toxinas que

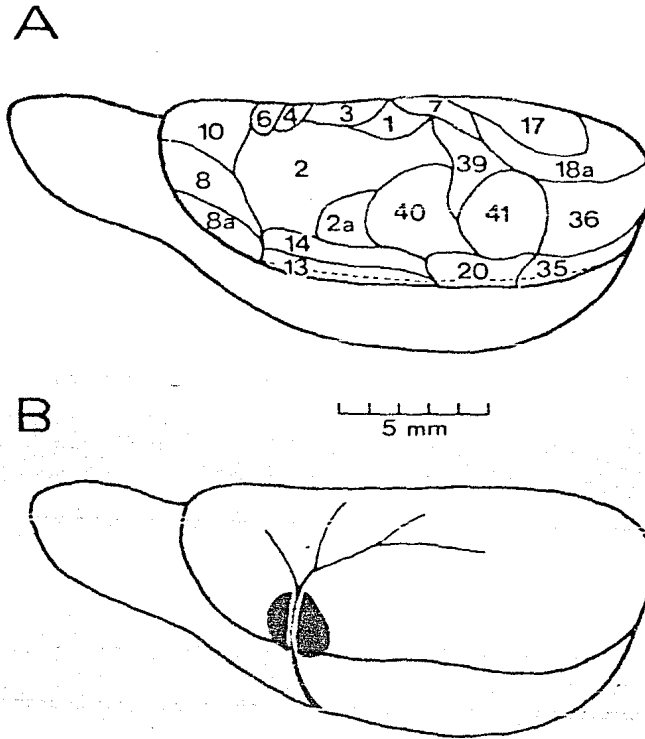


Figura 10.- Citoarquitectura de la neocorteza lateral (A) según el criterio de Krieg (1946), en (B) área aproximada de la corteza gustativa.

entran en la sangre son detectadas por una región quimiorreceptora en el piso del cuarto ventrículo; esta región es el área postrema. Una vez que el área postrema detecta algo tóxico, se dispara el reflejo emético.

Con el modelo de Borison y Wang de la émesis, se han predicho los resultados en investigaciones posteriores en el modelo del CAS. Ratas con vagotomias subdiafragmáticas no adquieren aversión a la sacarina si la irritación es inducida por intubación de sulfato de cobre en el aparato digestivo. Sin embargo, las ratas vagotomizadas, adquieren un CAS significativo si el sulfato de cobre es administrado por vía intravenosa. De igual manera, lesiones del área postrema abolen el CAS con toxinas en el torrente sanguíneo, pero el desarrollo de las aversiones normales resultan cuando la enfermedad es inducida con irritantes gástricos directos (Coil y Nargren, 1981).

En el caso del LiCl, no se ha demostrado exactamente su modo de acción ya que ratas vagotomizadas desarrollan CAS cuando el consumo es seguido inmediatamente por intubación intragástrica de LiCl. Sin embargo, aunque estos experimentos indican que el LiCl actúa vía el torrente sanguíneo, no se ha descartado su posible acción como irritante gástrico (Kiefer, 1986).

Como ya se mencionó anteriormente, el complejo amigdalino se ha propuesto como un sustrato anatómico para el CAS. Este complejo está situado lateralmente al hipotálamo, y ventralmente

al núcleo caudado y al globo pálido. En su cara rostral se extiende al nivel del núcleo supraquiasmático y en su parte caudal llega al nivel de los cuerpos mamilares. El complejo amigdalino se divide usualmente en dos conjuntos nucleares, uno es el grupo cortico medial, y el otro es el grupo basolateral. Dentro de esta división, el grupo basolateral es el que ha sido involucrado en el CAS. Este complejo nuclear se divide en cuatro núcleos que son: el núcleo lateral, el núcleo basolateral, el núcleo basomedial, y el núcleo central (Bermúdez-Rattoni y col., 1986).

Nachman y Ashe (1974) demostraron que lesiones en las regiones basal y lateral atenuaron la respuesta de neofobia y de aversión en el CAS. Estas deficiencias en el aprendizaje del CAS no pueden ser relacionadas fácilmente con alteraciones en la sensibilidad del gusto o del aparato digestivo, ya que ratas con lesiones en el complejo amigdalino responden normalmente a pruebas que miden la sensibilidad del gusto (Kieger y Grijalva, 1980), y también manifiestan conductualmente malestar cuando se establece la irritación gástrica.

Aunque ya es reconocida la injerencia del complejo amigdalino en el CAS, todavía existe controversia con respecto a los núcleos que están involucrados. Aggleton y otros (1981) postularon la participación del complejo basolateral y específicamente del núcleo basolateral en el establecimiento de la neofobia y del CAS. Sin embargo, Lasiter y Glanzman (1985), basados en lesiones



electrolíticas, postulan que el daño inducido en los núcleos central y lateral son suficientes para producir deficiencias en el CAS, descartando cualquier función del núcleo basolateral en este tipo de aprendizaje. Es importante notar que el tipo de deficiencias en el CAS debido a lesiones en los núcleos central y lateral de la amígdala, son similares a las deficiencias que ocurren cuando se seccionan con bisturí las fibras que pasan de la amígdala a la corteza temporal, e incluso a las lesiones de dicha corteza.

Las ratas utilizan tanto los estímulos gustativos como los olfativos como claves para identificar la sustancia que tienen como consecuencia la irritación gástrica; por lo tanto, si es destruida la información del componente olfativo puede verse afectado el CAS. Bermúdez-Rattoni y col. (1983) aplicaron novocaina al complejo amigdalino y encontraron que este tipo de alteración destruye la integración de la información del olor pero no la integración de la información del gusto en sí.

Lasiter propone que esto es debido a que la aplicación de la novocaina sólo afecta durante la presentación inicial del compuesto, mientras que las lesiones electrolíticas destruyen las neuronas junto con las fibras de paso, como son las vías que van del bulbo olfatorio a la amígdala y a la corteza temporal. Lo anterior sugiere que la destrucción de los núcleos central y lateral y de la corteza temporal producen deficiencias que afectan el procesamiento de la información gustativa, olfativa y

su relación con la irritación gástrica (Lasiter y col., 1982).

#### O B J E T I V O S.

Durante la exposición teórica se han discutido diferentes aspectos de los trasplantes. Dentro de estos aspectos se encuentran los primeros intentos de trasplantes, algunos de los diferentes métodos de implantación, y las principales características de los implantes, como son su morfología, las conexiones que establecen con el huésped y sus características bioquímicas y funcionales. La exposición teórica nos permite conocer las bondades que ofrecen los trasplantes en sus huéspedes, sin embargo, son pocos los trabajos que involucran a los trasplantes en procesos de recuperación de aprendizaje y memoria. El objetivo del presente trabajo experimental es caracterizar la funcionalidad de los trasplantes en un modelo conductual de aprendizaje y memoria bien definido, como es el modelo del CAS. Específicamente se observará la respuesta al CAS en animales lesionados en la corteza gustativa y en animales lesionados en la amígdala y que posteriormente recibirán trasplantes de corteza gustativa y de amígdala respectivamente.

## CAPITULO III

## 1. Método general.

El presente estudio se dividió en dos. La primera parte se encuentra enfocada al estudio de los efectos que lesiones y trasplantes de la corteza gustativa tienen sobre la pérdida y recuperación del condicionamiento aversivo a los sabores. La segunda parte se enfocó en el estudio de los efectos que lesiones y trasplantes de los núcleos amigdalinos tienen sobre la misma conducta.

En este estudio se utilizaron 39 ratas Wistar machos que al principio del experimento pesaron entre 250 y 300 gr. Los sujetos fueron separados en cajas individuales de acrílico que miden 20 X 15 X 30 cm. Una vez separados se procedió a la cirugía; las lesiones fueron practicadas bilateralmente. Antes de la lesión, los sujetos fueron anestesiados con pentobarbital a una dosis de 50 mg/kg. Una vez anestesiados los sujetos fueron colocados en un aparato estereotáxico colocando dos lápices de acero inoxidable en las cavidades auditivas y fijando la mandíbula superior con el sujetador bucal del estereotáxico. El electrodo consistió en un alfiler entomológico de acero inoxidable (00) aislado excepto en la punta (.5 mm aprox.), que estuvo conectado a un estimulador el cual permite el paso de una corriente a 1.5 mm durante 1.5 min. El electrodo fue fijado en una torre del estereotáxico. Este arreglo permite colocar con precisión la punta del electrodo en cualquier lugar del cerebro

de la rata. Para la localización del electrodo, se utilizó el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1982) utilizando las coordenadas siguientes con respecto a Bregma:

Neocroteza Gustatoria:

AP= 1.2

L= 5.5

H= -5

Amígdala :

AP= -2.5

L= 5

H= -8

AP= Antero-posterior, L= lateral y H= Profundidad con respecto a las meninges.

Antes de comenzar el experimento, se lesionaron ratas no experimentales para verificar las coordenadas en ambos casos. Un tercer grupo no fue lesionado y sirvió como grupo control. Después de la cirugía, se les dejó diez días con abundante agua y alimento para su recuperación. Una vez terminado el periodo de recuperación, se les privó de agua dándoles acceso a ésta únicamente durante 5 minutos de registro en la mañana, y veinte minutos en la tarde. Todo el tiempo que duró el experimento los sujetos se encontraron en un cuarto con 12 horas, luz-oscuridad controlada y temperatura constante (22-24 C). Ocho días después del experimento, los animales fueron sometidos al entrenamiento. Este consistió en colocar a los sujetos individualmente en cajas de registro durante 5 min. Estas cajas básicamente son iguales a

las que sirven como vivienda, con la excepción de que tienen un orificio en la cara frontal, el cual les da acceso a un tubo de acero inoxidable colocado en la base de una probeta con capacidad de 20 ml. como lo muestra el diagrama.

Antes de comenzar cada sesión de entrenamiento se encendió un dispositivo que produce ruido blanco de fondo para evitar lo más posible las distracciones del sujeto. La probeta durante los días de entrenamiento únicamente tuvo agua destilada. Después de cada corrida se midió el consumo de agua aproximándolo al .5 más cercano. Una vez alcanzada una línea base estable de consumo, en el día 11 se procedió a colocar una solución de sacarina al .1% en lugar del agua (EC). Una vez terminados los 5 min. de consumo se retiró a los sujetos a un cuarto contiguo y 30 min. más tarde se colocó una sonda intragástrica en cada sujeto y se inyectó una solución de LiCl (190 mg/kg) (EI). En los días 12, 13, 15 y 16 se registró el consumo de agua, y en los días 14 y 17 nuevamente se presentó la solución de sacarina para medir la extinción de CAS. El volumen ingerido de sacarina se tomó como representante de la medida de aversión al gusto. Al terminar estas pruebas se descartaron 4 ratas lesionadas (2 de corteza y 2 de amígdala por no mostrar una disminución en la aversión al gusto, (lo que puede significar que no estuvieron bien lesionadas). Las ratas lesionadas restantes fueron divididas en 4 grupos. Dos grupos permanecieron intactos, uno de lesiones en NG (LxNG),  $n = 7$ ; y uno de lesiones en AMX (LxAM),  $n = 7$ ; los dos grupos restantes recibieron transplantes, uno de tejido que corresponde a la NG

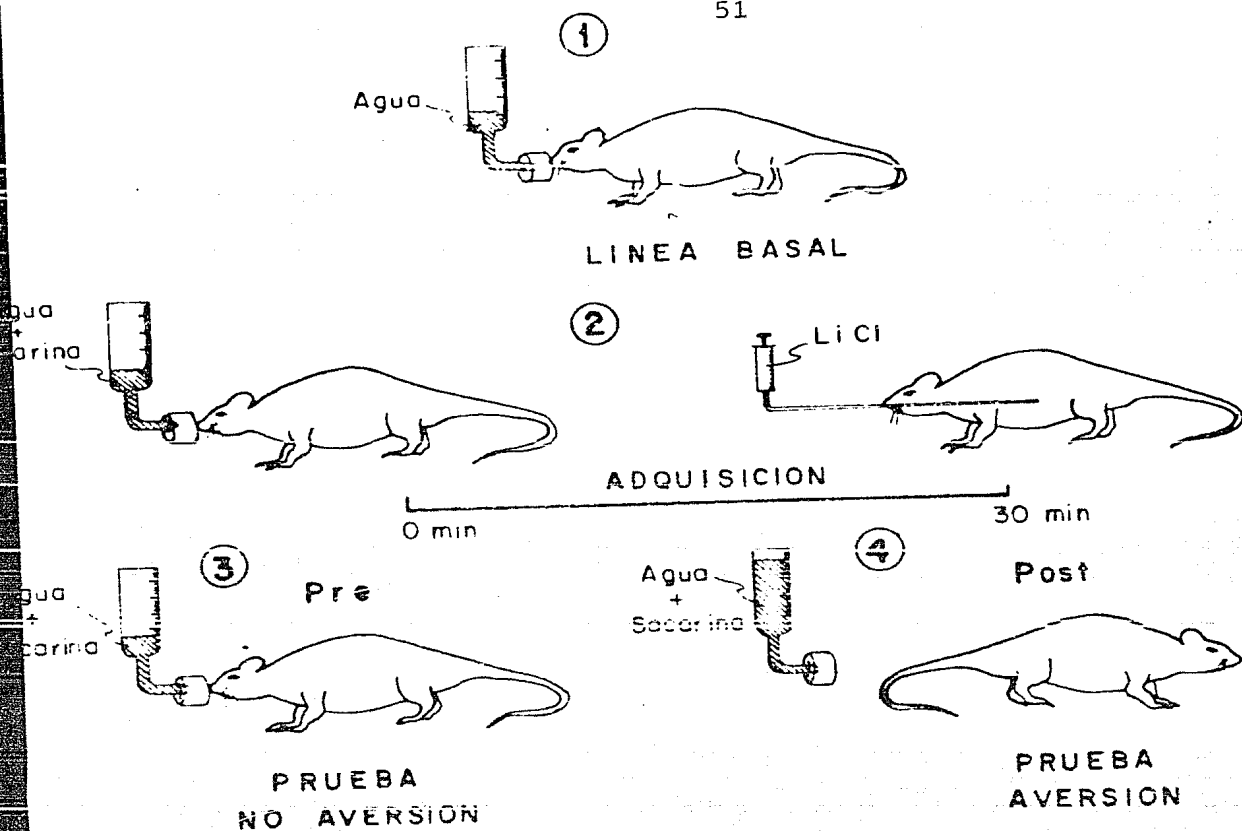


Figura 11.- Esquema de la metodología general. 1) diagrama que muestra la ingesta de agua para obtener la línea basal; 2) muestra la ingesta de la solución de sacarina y 30 min. después la aplicación de LiCl intragástrica; 3) diagrama que muestra una prueba sin aversión y 4) con aversión.

(GNG), n = 7; y otro de tejido que corresponde a la AMX (GAM), n = 7.

El trasplante se hizo de la manera siguiente (figura 12): los fetos se obtuvieron de ratas preñadas de 17 días de gestación. Se anestesió a las hembras con éter y los fetos se obtuvieron de la cavidad abdominal. Se les extrajo el cerebro y con microcirugía se obtuvo el tejido que circunscribe a la arteria cerebral media por arriba de la fisura rinal en el caso de la GNG y la región parieto temporal en el caso de GAM. El tejido obtenido fue succionado con una microjeringa Hamilton de 100 microlitros y mediante el estereotáxico, fue colocado en la cavidad previamente hecha por la lesión, es decir en las mismas coordenadas estereotáxicas.

Después de 8 semanas de recuperación, los 5 grupos (CON, LxNG, LxAM, GNG y GAM) fueron sometidos al mismo procedimiento conductual que ya mencione. Al final del experimento, los sujetos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital y fueron perfundidos intracardialmente con 50 ml. de solución salina al 0.9 % seguidos de 80 ml. de formol al 10% con heparina. Después de la perfusión se les extrajo el cerebro y se dejaron una semana en la solución de formol. Al concluir este plazo se incluyeron en parafina y los bloques se cortaron a 10 micrometros de espesor en el plano cortical. Los cortes obtenidos fueron teñidos con el método Kluver-Barrera, con el objetivo de determinar las características de las lesiones y de los trasplantes en su caso.

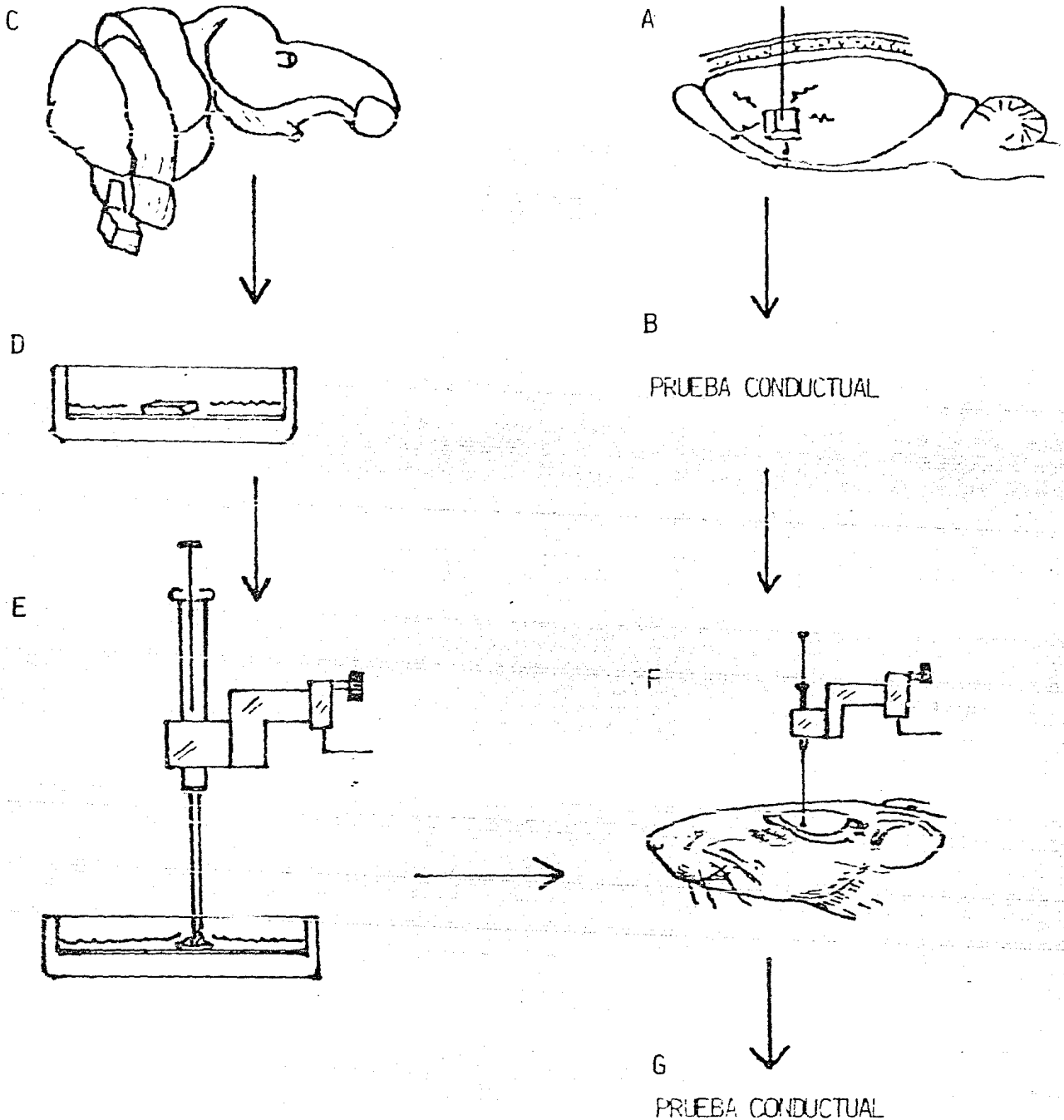


Figura 12.- Esquema que representa el método de lesión (A), y del transplante. En (C) se obtiene el tejido y se coloca en un recipiente con solución salina (D), con una microjeringa Hamilton se succiona el tejido (E), y con métodos estereotáxicos se coloca en el huesped (F).



## 2. Resultados.

Un meticoloso examen histológico mostró que las lesiones a la NG, destruyeron las cortezas insulares granular y agranular, (las áreas 13 y 14 de Krieg), así como porciones ventrales de la neocorteza sensorial. En el grupo lesionado en la AMX, se encontró que la lesión generalmente tuvo forma de gota, con un diámetro de 1 a 1.5 mm. En algunos casos ocurrieron pequeños daños extra-amigdalinos que alcanzaron a la cápsula interna. Los trasplantes que sobrevivieron y se desarrollaron, se encontraron en seis de siete sujetos en cada uno de los grupos transplantados. Cuatro sujetos del grupo GNG y cinco del grupo GAM presentaron trasplantes bilaterales, mientras que trasplantes unilaterales se encontraron en los dos sujetos restantes del grupo GNG y en el último sujeto del grupo GAM. Todos los trasplantes en ambos grupos se mostraron aparentemente saludables y bien integrados dentro del tejido del huésped (figura 13). La inspección individual de los valores del consumo de sacarina de cada animal con trasplantes bilaterales o unilaterales no mostró ninguna diferencia particular entre ambos tipos, lo que indica que un trasplante unilateral es suficiente para producir la recuperación conductual. Una prueba de análisis de varianza (ANOVA) simple fue hecha sobre el porcentaje de las pruebas con respecto al volumen de línea base del día anterior para cada grupo usando la prueba Dunnett, (con dos colas de significancia;  $p < 0.05$ ).

La figura 14 resume los resultados del condicionamiento CAS para el experimento en corteza gustativa antes y después del trasplante.

Durante el ensayo de adquisición antes del trasplante, los resultados no muestran ninguna diferencia significativa entre los grupos. En la primera prueba de gusto el grupo CON mostró una fuerte aversión al gusto, y se obtuvieron diferencias entre los grupos ( $F(2,15)=22.74$ ,  $p < 0.0001$ ). Como era esperado los grupos lesionados en la corteza no mostraron ninguna aversión al gusto. Una prueba t de Student mostró que los grupos lesionados fueron diferentes significativamente del control, pero no fueron diferentes entre ellos ( $p < 0.02$ ).

Las comparaciones con ANOVAS de las pruebas después del trasplante mostraron que durante la prueba al gusto después de la adquisición si existieron diferencias entre los grupos ( $F(2,15)=5.64$   $p < 0.05$ ). (figura 14). Una prueba de t reveló que no existieron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo que recibió trasplante de corteza, pero si hubo diferencias entre el lesionado contra el control, y el lesionado contra el que recibió el trasplante. ( $p < 0.02$ ). Por último, una prueba t pareada mostró que hubo diferencias significativas pre y post trasplante en el grupo que recibió trasplante. ( $p < 0.01$ ).

La figura 15 resume los resultados del condicionamiento CAS para el experimento en el complejo amigdalino. En la figura se

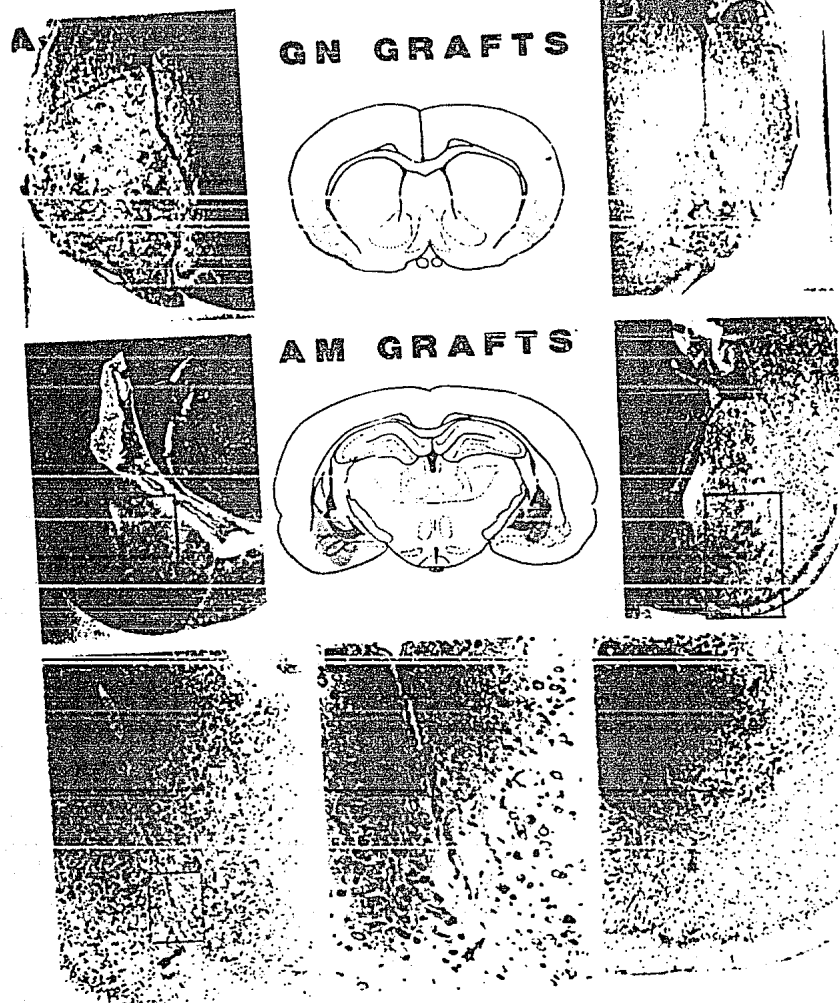


Figura 13. Fotografías de secciones de cortes transversales de cerebros de ratas. A y B muestran transplantes de tejido cortical fetal implantados en la corteza gustativa; C y F muestran transplantes de tejido amigdalino fetal implantados en la amígdala; D y E ampliaciones de C (10 X y 25 X respectivamente); y G ampliación de F (10 X).

## CORTEZA

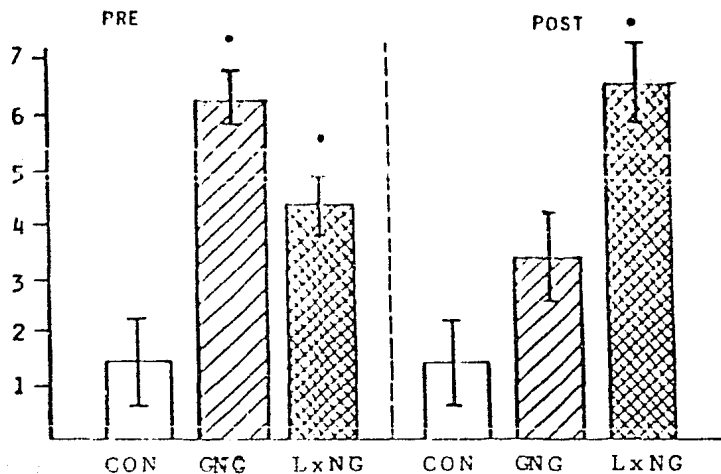


Figura 14.- Resultados del condicionamiento en los diferentes grupos. El lado izquierdo de la gráfica muestra los resultados previos al trasplante (PRE). Los animales con lesión en la neocorteza gustativa (grupos GNG y LxNG), no adquirieron aversión. El lado derecho muestra los resultados ocho semanas después del trasplante (POST). El grupo GNG muestra la recuperación de la aversión cuando es comparada con el grupo control. El grupo que permaneció únicamente con lesión LxNG, no mostró aversión alguna al gusto. \* $p < 0.025$ ; prueba t de dos colas.

TARIFA 2

ANOVA CON REPETIDAS MEDIDAS			
GRUPOS		F(2,47) = 3.27	p < 0.05
PRE-POST		F(2,47) = 28.18	p < 0.01
GRUPOS/PRE-POST		F(4,47) = 15.49	p < 0.0001
PRE		POST	
F(2,15) = 22.94		F(2,15) = 5.64	
p < 0.0001		p < 0.05	
PRUEBA t DE STUDENT			
PRE		POST	
CON-GNG	p < 0.02	CON-GNG	NS
CON-LxNG	p < 0.02	CON-LxNG	p < 0.02
GNG-LxNG	NS	GNG-LxNG	p < 0.02
PRUEBA DE T PAREADA			
PRE		POST	
CON	vs	CON	NS
GNG	vs	GNG	p < 0.01
LxNG	vs	LxNG	p < 0.02

Estadística grupos GNG y LxNG

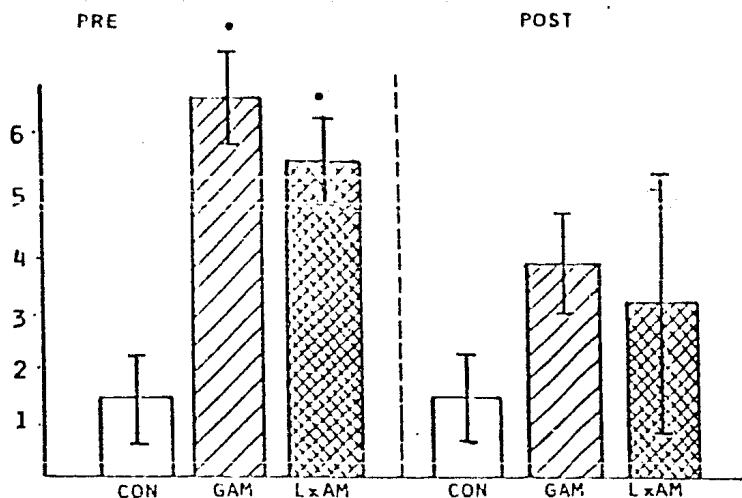


Figura 15.- Resultados del condicionamiento en los diferentes grupos. El lado izquierdo de la gráfica muestra los resultados previos al transplante (PRE). Los animales con lesión en la amígdala (grupos GAM y LxAM), no adquirieron aversión. El lado derecho muestra los resultados ocho semanas después del transplante (POST). El grupo GAM mostró recuperación de la aversión cuando fue comparado con el control. Cabe notar que el grupo lesionado LxAM mostró recuperación estontanea de la aversión. \*  $p < 0.025$ ; prueba-t, de dos colas.

TABLA 3

ANOVA CON REPETIDAS MEDIDAS			
GRUPOS		$F(2,47) = 4.89$	$p < 0.02$
PRE-POST		$F(2,47) = 21.22$	$p < 0.01$
GRUPOS/PRE-POST		$F(4,47) = 4.66$	$p < 0.005$
PRE		POST	
$F(2,15) = 29.29$		$F(2,15) = 0.86$	
$p < 0.0001$		NS	
PRUEBA t DE STUDENT			
PRE		POST	
CON-AMX	$p < 0.02$	CON-AMX	NS
CON-LxAMX	$p < 0.02$	CON-LxAMX	NS
AMX-LxAMX	NS	AMX-LxAMX	NS
PRUEBA DE T PAREADA			
PRE		POST	
CON	vs	CON	NS
AMX	vs	AMX	$p < 0.05$
LxAMX	vs	LxAMX	NS

Estadística grupos AMX y LxAMX

puede observar la diferencia significativa previa al transplante entre el grupo control y los grupos lesionados en la amígdala. ( $F(2,15) = 29.29$ ,  $p < 0.0001$ ). Mientras que en la prueba ANOVA ocho semanas después de que el grupo GAM recibiera el transplante la prueba demostró que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Las pruebas  $t$  de Student mostraron que antes del transplante los dos grupos lesionados fueron diferentes significativamente del control ( $p < 0.02$ ), pero después de 8 semanas tanto el grupo que recibió el transplante, como el lesionado no mostraron ninguna diferencia con respecto al control.

Con el fin de comparar las diferencias en el consumo de sacarina de cada grupo, en las últimas pruebas de consumo de sacarina de pre y post transplante, se realizaron pruebas  $t$  pareadas adicionales. Después de recibir el transplante, los grupos GNG y GAM disminuyeron significativamente su consumo de sacarina con respecto a su ingesta previa al transplante ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, el grupo que fue lesionado en la región cortical, no recuperó la aversión al gusto. Aun más, mostró un incremento en el consumo de sacarina. Finalmente, el grupo de LxAM mostró un importante decremento en su ingesta de sacarina cuando fue comparado con su medida de aversión antes del transplante ( $p < 0.05$ ). (tablas 2 y 3).

## CAPITULO IV

## 1. Discusión.

Recientemente se ha incrementado el interés en el fenómeno de la recuperación conductual después de que el SNC a sufrido daño. Este incremento en el interés es el resultado de la experimentación que ha demostrado que el SNC de mamíferos es más dinámico de lo que anteriormente se pensaba.

Sin embargo, estos mismos resultados no proporcionan bases para establecer una relación causal bien fundamentada, que relacione la reorganización neuronal inducida por lesión y la recuperación conductual.

Como se puede observar de las gráficas 14 y 15, los resultados obtenidos en este trabajo experimental muestran que las lesiones electrolíticas efectuadas en la GN y en la AMX producen deficiencias en las respuestas al CAS, lo que confirma observaciones previas. Con respecto a los trasplantes, se puede observar que el tejido fetal cortical implantado en GN previamente lesionado produce una recuperación significativa en el CAS, además se puede descartar la posible recuperación espontánea, ya que el grupo de sujetos lesionados en GN no recuperó en el mismo periodo de tiempo. Con respecto a los grupos de amígdala, ambos, el lesionado y el transplantado, recuperaron la conducta de CAS. Esto fue totalmente inesperado ya que nunca se ha reportado con anterioridad, probablemente sea debido a que los experimentos reportados fueron diseñados para observar efectos en cortos periodos de tiempo post-lesión.

Aún no está claro si las deficiencias en el CAS debidas a lesiones en el complejo amigdalino son por destrucción de fibras de paso que se dirigen a otras estructuras, o se deban a la lesión de núcleos integradores de información del CAS que se encuentran dentro de este complejo (Fitzgerald y Burton, 1981). Se ha encontrado una estrecha participación colinérgica de los núcleos de la amígdala en el CAS, ya que la aplicación de escopolamina en dicha estructura reduce notoriamente la respuesta aversiva al gusto (Bermúdez-Rattoni y col., 1983). Lo anterior puede implicar que la destrucción de la amígdala esté alterando el sistema colinérgico que de alguna manera interviene en el CAS. (Bermúdez-Rattoni y col., 1983). La recuperación observada en las ratas lesionadas en amígdala se puede deber a la reorganización de las vías que se dirigen a la corteza temporal, en el caso de que la amígdala sea únicamente una estación de relevo dentro del proceso de información del CAS. Si la amígdala participa en el procesamiento de la información, y ocurre la recuperación conductual, entonces se puede hablar de mecanismos de plasticidad, como reorganización de las sinapsis colinérgicas, aunque únicamente como especulación hasta que se realice más investigación dentro de este campo, como podría ser la lesión del complejo amigdalino con ácido kainico para establecer el rol de los diferentes núcleos dentro del CAS.

La corteza gustativa está involucrada, como su nombre lo indica, con el gusto. Sin embargo ya ha sido demostrado que no es la estructura encargada de identificar los diferentes estímulos



gustativos en sí, ya que ratas con ablaciones de dicha corteza son capaces de identificar los distintos estímulos gustativos que se les presentan (Braun y col. 1982). Una función en que está involucrada la corteza gustativa es en el CAS. Kieger y col. (1982), lesionaron la corteza en el área 20 de Krieg, y encontraron que las ratas fueron incapaces de asociar un estímulo gustativo con una irritación gástrica aplicada 30 minutos después. Buresova y Bures (1973) deprimieron la corteza con una solución de alta concentración de potasio, y encontraron que estos sujetos no fueron capaces de asociar un estímulo gustativo con la irritación gástrica. En nuestro experimento, las ratas lesionadas en la corteza gustativa no aprendieron el CAS, incluso en la prueba que siguió a la adquisición los sujetos incrementaron la ingesta de sacarina, mientras que el control bebió muy poco. Después del trasplante los mismos sujetos presentaron una disminución significativa en la ingesta, lo que nos permite postular que el trasplante tuvo un efecto positivo en el aprendizaje del CAS. La manera en que el trasplante está actuando es aún desconocida, ya que no se puede afirmar en este caso que sea debida a los factores liberados, o a las conexiones establecidas.

Los intentos de explicar la recuperación conductual después de una lesión cerebral pueden ser clasificados básicamente en dos grupos teóricos. El primero enfatiza que en el cerebro de los mamíferos existe una relación estable de la estructura con respecto a la función (Le Vere, 1980). Dentro de esta corriente

de pensamiento, se pueden encontrar varias ramas que no difieren básicamente entre ellas, pero que son manejadas en forma independiente, como por ejemplo los conceptos de diáskisis y choque neural que sostienen que cuando una parte del cerebro esta dañada, otras partes también sufrirán trastornos o suspensión de su funcionamiento, esto a su vez repercutirá en las pruebas conductuales. (Stein y col. 1983). Las teorías de compensación difieren de la anterior en que éstas enfatizan que los organismos con daño cerebral, toman en cuenta diferentes claves ambientales, diferentes receptores y aún diferentes grupos musculares o estrategias para alcanzar las metas (Stein y col., 1983). Estos cambios pueden algunas veces ser muy sutiles y difíciles de detectar, y pueden dar la ilusión de una verdadera recuperación. Básicamente los modelos de compensación, postulan que mientras las estructuras cerebrales restantes pueden ser usadas para ejecutar una tarea, estas estructuras no están tomando funciones nuevas o inusuales, sino que el organismo simplemente está haciendo lo mejor con lo que tiene.

La segunda orientación, que es opuesta a la primera, postula una reorganización neuronal activa siguiendo a una lesión del SNC. Los tres cambios en los circuitos neuronales más citados como mecanismos potenciales de reorganización son:

A) Reactivación de la sinaptogénesis. Este es un proceso en el cual axones intactos, envían nuevas ramas o terminales a ocupar sitios sinápticos vacíos dejados por otros axones que están degenerando o muriendo (Dotman y col. 1978).

b) Reencaminamiento de axones. Los axones pueden dirigirse a

lugares inusuales y ahí establecer contactos sinápticos si el locus normal de terminación es dañado antes de que el axón en desarrollo lo alcance. Scheider y col, mostraron que cuando las capas superficiales del colículo superior de hamsters neonatos fueron dañados al nacimiento, algunos axones retinianos atravesaron completamente el colículo para terminar en núcleos relacionados del tálamo (So y col. 1976).

C) Retracción de axones. Algunos axones aparentemente desarrollan ramas extras al principio de su desarrollo, que están destinadas a retraerse después. Este proceso normal de retracción parece no tener lugar si es precedido por lesión cerebral al principio de la vida. Land y Lund (1979) demostraron que la retracción normal de una proyección retinal ipsilateral no ocurre en las ratas si la proyección del otro ojo es dañada durante el período neonato.

Por otra parte, se ha reportado que existen asociaciones entre neuroplasticidad y recuperación. Aunque la reactivación de la sinaptogénesis, la redireccionalidad de los axones o la retracción de axones con sus cambios en los circuitos relacionados, vistos después de pérdida celular y lesiones son postulados como mecanismos de plasticidad neuronal, para poder llamarlos mecanismos de recuperación, tienen que estar acoplados a una recuperación conductual real. Sin embargo, hasta el momento son esporádicos los estudios que asocian dichos términos y sus resultados son de difícil interpretación. Aun más, como otros eventos como la diasquisis y la compensación también pueden ser correlacionados con la recuperación conductual, es muy

difícil atribuir la recuperación observada a un único mecanismo tal como la ramificación de los axones.

Como ejemplo de lo anterior, se encuentran dos estudios ampliamente citados. El primero es el estudio de Loesche y Stewart (1977), que supone la idea de que la ramificación axonal sostiene o fundamenta la recuperación funcional. Estos investigadores enseñaron a ratas a realizar una tarea de alternación para obtener comida en el laberinto, después los sujetos fueron lesionados en la corteza entorrinal unilateralmente, produciendo deficiencias en la realización de la tarea. Esta operación resultó en una ramificación de los axones del hipocampo a partir de las células en el lado intacto de la corteza entorrinal. Loesche y Stewart reportaron en el mismo trabajo que el transcurso en el tiempo de la recuperación de la deficiencia conductual, fue paralelo al transcurso en el tiempo de la ramificación en la formación hipocampal. Aunque esta relación temporal puede ser interpretada para sugerir que las conexiones que se acababan de formar mediaron la recuperación conductual es posible que otros factores influyeran.

En un segundo estudio Ramirez y Stein (1984) realizaron un experimento similar al de Loesche y Stewart y encontraron que, en efecto, se llevó al cabo la ramificación como ya había sido descrito, pero notaron que los animales con lesión unilateral nunca mostraron una deficiencia en la alternación espacial, ni aun antes de la aparición de alguna ramificación. Aun más, Ramirez y Stein observaron una recuperación conductual después de una lesión bilateral de la corteza entorrinal, aunque este tipo

de lesión no estuvieran asociadas con ramificación a partir de la corteza entorrinal. Para concluir Ramírez y Stein encontraron ejemplos de ramificación en la ausencia de disfunción conductual, y de recuperación sin ramificación axonal.

Debido al éxito de la técnica de los trasplantes, recientemente diferentes grupos de investigadores se han preocupado por postular diferentes mecanismos de recuperación debidos al trasplante. El hecho de que sujetos que perdieron facultades por lesiones específicas se recuperaron después de transplantarles tejido del SNC, es algo indiscutible y actualmente es ampliamente documentado, pero la razón por la cual se recuperan es algo que todavía no está del todo claro (Drucker y col., 1984).

Existen dos posibles explicaciones que son manejadas por los diversos grupos de investigación. La primera de ellas consiste en postular una gran especificidad en las sinapsis emergentes de los trasplantes o cuando menos una liberación, aunque sea difusa, de un determinado neurotransmisor (Dunnett y col. 1983). La segunda explicación que a empezado a cobrar auge muy recientemente, es que los trasplantes sirven como portadores de factores de crecimiento y estabilizadores del medio (Kesslack y col. 1986).

La primera hipótesis está apoyada por trabajos en donde se reportan trasplantes de tejidos de diferentes regiones cerebrales, como por ejemplo los experimentos de Dunnett y col.

(1982) que ya fueron mencionados anteriormente, donde se lesionó en fimbria-fornix y se transplantó tejido del area septal. Dichos sujetos recuperaron la conducta, sin embargo cuando es transplantado tejido del Locus coeruleus a la misma región, los sujetos no se recuperan, lo que habla de la necesidad de la especificidad de un neurotransmisor adecuado (Dunnett y col. 1982). Esta hipótesis también es respaldada por estudios donde se transplantó tejido de sustancia nigra en diferentes partes del núcleo caudado a sujetos que fueron previamente lesionados en la S.N., como resultado de estos transplantes múltiples, se observó la recuperación de diferentes conductas dependiendo de la región que inervó cada transplante (Dunnett y col. 1983).

En esta misma línea Fray y col. (1983) transplantaron tejido de la SN en el cuerpo estriado, y después colocaron electrodos en los transplantes. Encontraron que los electrodos situados en transplantes de SN que reinnervaron el neostriado, fueron capaces de conducir estimulación eléctrica suficiente para mantener una conducta de autoestimulación en la rata huésped. Por otro lado, los electrodos colocados en transplantes corticales que sirvieron como controles, o colocados en el estriado denervado fueron inefectivos. Además encontraron una buena correlación entre los niveles de autoestimulación y la proximidad de la punta del electrodo a las células dopaminérgicas en los respectivos transplantes, lo que sugiere que la información en forma de estimulación eléctrica de los cuerpos celulares fué dirigida por el axon al estriado del huésped.

Por último cabe mencionar que los efectos de transplantes

sobre deficiencias de coordinación motora fueron únicamente vistas en trasplantes de tejido rico en dopamina y no en trasplantes de tejido septal rico en acetilcolina (Bjorklund y col., 1983).

A continuación se mencionarán los principales experimentos que dan lugar a la segunda hipótesis explicativa. Labbe y col. (1986) postulan la posibilidad de que los efectos de los trasplantes sean mediados por factores neurotróficos. Ya se revisaron con anterioridad los experimentos del grupo de Labbe brevemente. Estos autores observaron que trasplantes de corteza frontal, pero no los de tejido cerebelar, reducen deficiencias en la realización de una tarea de aprendizaje en ratas que fueron lesionadas previamente en la corteza frontal. La recuperación de las conductas que muestran sus experimentos difícilmente pueden deberse a la formación de circuitos, ya que las pruebas que indican la recuperación fueron realizadas a tiempos muy cortos (7 días post-trasplante), y por otro lado, toman los tejidos de un periodo de gestación muy tardío, como lo está un feto de 20-22 días de gestación, sobre el que se ha reportado un crecimiento prácticamente nulo, por lo que no queda otra alternativa que adjudicar la recuperación a factores liberados.

Los experimentos que dan mayor peso a la teoría de los factores liberados, proviene del grupo de Cotman (Koccolak, 1986). Ellos aseguran que hay factores tróficos en el tejido embrionario que actúan en el huésped y que aceleran la recuperación de las neuronas traumatizadas o que incrementan la sinaptogénesis.

En 1986 publicaron un artículo de vital importancia para dicha teoría. Los autores lesionaron varios grupos de ratas en la corteza frontal que se sabe produce deficiencias en tareas de aprendizaje dentro del laberinto en T. En el primer experimento utilizaron 6 grupos: 1) un grupo control (con), 2) un grupo con ablación en la corteza frontal (fcx), 3) un grupo gelfoam (gf) al que se le implantó gelfoam que había permanecido siete días en la corteza lesionada de sujetos no experimentales, 4) un grupo (ex) al que se le inyectó el extracto obtenido de gelfoam que había permanecido siete días en la corteza lesionada de sujetos no experimentales, 5) un grupo (oEC) que recibió trasplante de cx fetal inmediatamente después de la lesión, 6) un grupo (dEC) fue trasplantado con corteza fetal siete días después de haber lesionado a los sujetos. Los resultados indican que no hay diferencias significativas entre el control, el woun-gelfoam y el trasplante retardado de corteza fetal, pero si hay diferencias entre el control, el transpalnte de corteza frontal, el extracto inyectado y el trasplante inmediato de corteza fetal. (figura 16).

Los autores postulan que la recuperación del grupo que recibió trasplante de corteza fetal con un retraso de tiempo entre la lesión y el trasplante, es muy rápida como para que se hallan formado conexiones entre el trasplante y el huésped. Para esclarecer la recuperación observada después de implantar el gelfoam, hacen un segundo experimento donde estudian cuatro grupos, un control, un grupo con lesión de la corteza frontal, un



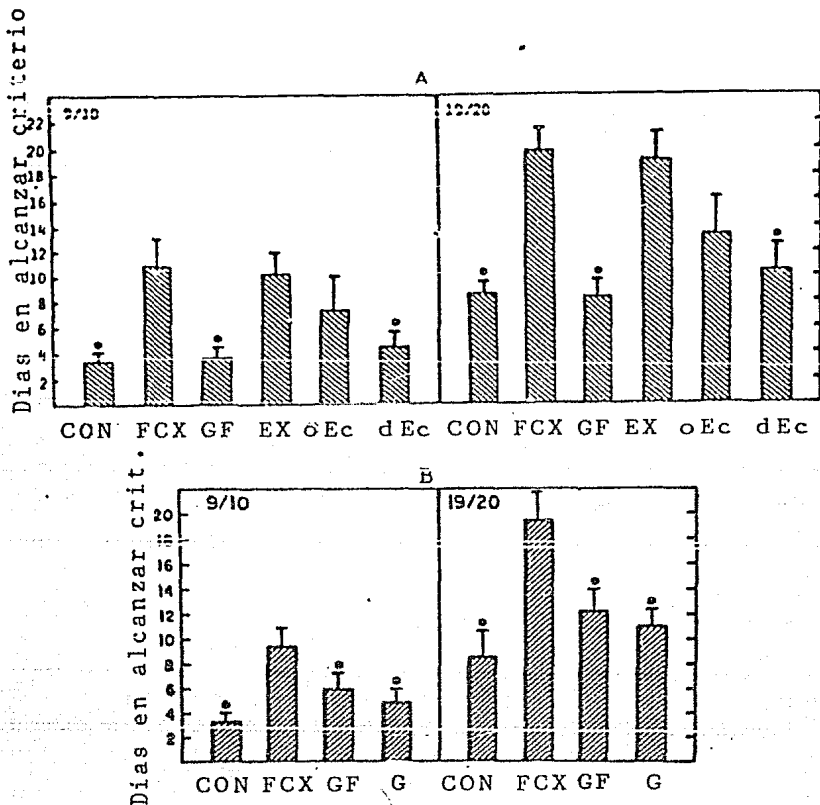


Figura 16.- Número de días requeridos para alcanzar el criterio de realización después de lesiones en la corteza frontal. Los grupos en A son: sham= control, FCX= lesión en la corteza frontal, WD-GF= Fragmentos de gelfoam embebidos en heridas hechas previamente, WD-EX= extractos de fluidos de las heridas, oEc= Transplantes corticales realizados inmediatamente después de la lesión, dEc= Transplantes de corteza con un retraso en el tiempo con respecto a la lesión. En B, glia= Astroцитos en gelfoam.

grupo gelfoam, y un grupo "glia" previamente lesionado en la corteza frontal en el que embeben trozos de gelfoam impregnados con células gliales previamente incubadas. Los resultados de este experimento mostraron que no hubo diferencia entre el control, el gelfoam y la glia, el único grupo que mantuvo diferencias fue el trasplante de corteza frontal. De estos dos experimentos, los autores concluyen que aunque es sabido que los astrocitos producen factores neurotróficos y promotores de neuritas es difícil pensar que todo el efecto de recuperación sea debido a estos factores, ya que el extracto de gelfoam, que supuestamente contiene estas sustancias, no tuvo ningún efecto, por lo que esto les sugirió que la estabilización del medio por los astrocitos como absorción de sustancias neurotóxicas liberadas por la lesión es otro factor muy importante para poder obtener la recuperación del sistema. Como conclusión ellos demuestran que en este caso, únicamente el trasplante de astrocitos es suficiente para restaurar una función perdida por lesión.

Estudios preliminares en nuestro laboratorio nos permiten saber que los trasplantes de corteza gustativa sí establecen conexiones con el huésped, sin embargo trasplantes de tejido tomado de la lámina cuadrigémina parecen también establecer conexiones, pero no tienen ningún efecto conductual. Con base en lo anterior es muy difícil adjudicar cualquier teoría de las ya mencionadas para explicar la recuperación del CAS, ya que en caso de restringir dicha explicación a un solo fenómeno, se corre el riesgo de no poder explicarlo en toda su extensión,

además que implicaría comprometerse con esa teoría sin tener bases experimentales suficientes. Como conclusión se puede afirmar que los trasplantes de corteza gustativa son capaces de restaurar la respuesta aversiva al sabor en animales lesionados previamente. Además, la lesión en la amígdala es seguida por una recuperación espontánea de la respuesta aversiva al sabor.

## B I B L I O G R A F I A

- Aggleton, J.P., Petrides, M. & Iversen, S.D. Differential effects of amygdaloid lesions on CTA learning by rats. 1981, *Physiol & Behav.*, 27:397-400.
- Bermúdez-Rattoni, F., La integración neural de los hábitos alimenticios. *Boletín de estudios médicos y biológicos*, 1986, 34:43-50.
- Bermúdez-Rattoni, F., Chávez-Almanza, F., Coburn, K. y García, J. The role of the amygdalar cholinergic activity in taste potentiated odor aversion learning. 1983. *Soc. Neurosci. Abstract. V.9, part 2:827.*
- Bermúdez-Rattoni, F., Rusiniak, K.W. & García, J. Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. 1983, *Behav. Neural Biol.*, 37:61-75.
- Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W. y García, J. Flavor-Illness aversion: The role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions. 1986. *Phys & Beh.* 38:503-508.
- Bjorklund, A. y Stenevi, U., Intracerebral neural implants: Neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitres. *Ann. Rev. Neurosci.* 1984, 7:279-308.
- Bjorklund, A., Segal, M. y Stenevi, U., Functional reinnervation of rat hippocampus by Locus coeruleus implants. *Brain Res.*, 1979, 170: 409-426.
- Bjorklund, A., Schmidt, F.H., Stenevi, R.H. y S.B. Dunnett. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. VII. Recovery of choline acetyltransferase activity and acetylcholine synthesis in the denervated hippocampus reinnervated by septal suspension implants. 1983. *Acta Physiol. Scand.*, Suppl. 522: 59-66.
- Bjorklund, A., Dunnett, S.B., Stenevi, U., Lewis, M. E. and Iversen, S.D., Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: Functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. 1980. *Brain Res.*, 199:307-333.
- Booth, D. A. Food intake compensation for increase and decrease in the protein content of the diet. 1974, *Behav. Biol.*, 12:31-40
- Borison, H.L. & Wang, S.C. Physiology and pharmacology of vomiting. 1953, *Pharm. Rev.*, 5:193-230.

- Braun, J.J., Lasiter, P.J. & Kiefer, S. W. The gustatory neocortex of the rat. 1982, *Physiol. Psychol.* 10:13-45.
- Buresova, O. & Bures, J. Cortical and subcortical components of the conditioned saccharin aversion. 1973. *Phys & Beh.* 1973, 11:435-439.
- Coil, S.D. & Norgren, R., Taste aversions conditioned with intravenous copper sulfate: Attenuation by ablation of the area postrema. 1981, *Brain Res.*, 212:425-433.
- Cotman, C.W. and Nadler, J.V., Reactive synaptogenesis in the hippocampus. IN C.W. Cotman (Ed.), *Neuronal Plasticity* Raven Press, New York, 1976, pp. 69-108.
- Chang, F.F., Steedman, J.G. and Lund, R. D. The lamination and connectivity of embryonic cerebral cortex transplanted into newborn rat cortex. 1986, *J. Comp. Neurol.*, 244:401-411.
- Das, G.D., Transplantation of embryonic neural tissue in the mammalian brain. 1974, *T.I.T.J. Life Sci.*, 4:93-124.
- Das, G. D., Hallas, B.H. & Das, K. G. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. I. Growth characteristics of neocortical transplants from embryos of different ages. 1980. *Am.J. Anat.*, 158, 135-145.
- Domjan, M. Attenuation and enhancement of neophobia for edible substances. In L. Barker, M. Best and M. Domjan (eds.) *Learning mechanisms in food selection.* Waco, Texas: Baylor Univ. Press. 1977.
- Domjan, M. Poison-induced neophobia in rats: Role of stimulus generalization of CTA. 1975. *Animal Learning & Behav.*, 3:205-210
- Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R., Garcia-Hernández, F., Fernández Cancino, F. and Bermúdez-Rattoni, F. Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Res.* 1984, 311:353-357.
- Dunnett, S.B., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Dopamine-rich transplants in experimental Parkinsonism. 1983. *TINS* 6:266-270.
- Dunnett, S.B., Toniolo, G., Fine, A., Ryan, C.N., Bjorklund, A., and Iversen, S.D., Transplantation of embryonic ventral forebrain neurons to the neocortex of rats with lesions of nucleus Basalis Magnocellularis. II Sensorimotor and learning impairments. 1985, *Neuroscience*, Vol 16, 4:787-797.
- Dunnett, S.B., Low, W.C., Iversen, S.D., Stenevi, U., Bjorklund, A., Septal transplants restore maze learning in rats with

- fornix-fimbria lesions. 1982, Brain Res. 251: 355-48.
- Fitzgerald, R.E. and Burton, M.J., Effects of small basolateral amygdala lesions on ingestion in the rat. 1981. Phys & Beh. 27:431-437.
- Fray, P.J., Dunnett, S.B., Iversen, S.D., Bjorklund, A., & Stenevi, U. Nigral transplants reinnervating the dopamine depleted neostriatum can sustain intracranial self-stimulation. 1983, Science, 219:416-419
- Freed, W.J. y Wyatt, R.J. Transplantation of eyes to the adult rat brain: Histological finding and light-evoked potential response. 1980. Life Sci., 27: 503-510.
- García, J., Lasiter, P.A., Bermúdez-Rattoni y Deems, D.A. A General theory of aversion learning. 1986. Ann.N.Y. Acad. Sci. 443:8-21.
- García, J., Kimeldorf, D.J., Hunt, E.L. and Davies, B.P. Food and water consumption of rats during exposure to gamma radiation. 1956, Radiation Res., 1956, 4:33-41. citado en García, J., Lasiter, P.S, Bermudez-Rattoni, F., & Deems, D.A., A general theory of aversion learning. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1985, 443:8-21.
- García, J. Kimeldorf, D.S. & Koelling, R.A., Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. 1955, Science, 122:157-158.
- Grill, H. J. & Norgren, R. The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. 1978, Brain Res., 143:263-277.
- Grill, H. J. & Norgren, R. The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. 1978, Brain Res., 143:281-297.
- Hallas, B.H., Das, G.D. & Das, K.G. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. II. Growth characteristics of neocortical transplants in host of different ages. 1980, Am. J. Anat., 158:147-159.
- Harvey, A.R. y Lund, R.D. Transplantation of tectal tissue in rats. II. Distribution of host neurons wich project to transplants. J.Comp. Neurol., 1981, 202: 505-520.
- Jaeger, C.B. y Lund, R.D., Transplantation of embrionic occipital cortex to the brain of newborn rats. Exp. Brain Res. 1980, 40: 265-272.
- Jaeger, C.B. y Lund, R.D. Transplantation of embryonic occipital cortex to the tectal region of newborn rats: a light microscopic study of organization and connectivity of

- the transplants. *J. Comp. Neurol.*, 1980, 194: 571-597.
- Kelly, P.A.T., Sage, F.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U., and Bjorklund, A. Functional reactivation of the deafferented hippocampus by embryonic septal grafts as assessed by measurements of local glucose utilization. *Exp. Brain. Res.* 1985, 58: 570-579.
- Kesslak, J.P., Nieto-Sampedro, M., Globus, J., and Cotman, C.W. Transplants of purified astrocytes promote behavioral recovery after frontal cortex ablation. 1986, *Exp. Neurol.*, 92: 377-390.
- Kiefer, S.W. Neural mediator of Conditioned food aversion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1986. 443:100-109.
- Kiefer, S. W. and Grijalva, C.V. Taste reactivity in rats following lesions of the zona incerta or amygdala. 1980, *Physiol. Behav.* 23:547-554.
- Kiefer, S.W., Rusiniak, K.W. & Garcia, J. Flavor-illness aversions: Gustatory neocortex ablations disrupt taste but not taste-potentiated odor cues. 1982., *J. Comp. Physiol. psychol.* 96:540-548.
- Kriekhaus, E. E. y Wolf, G. Acquisition of sodium by rats: interaction of innate mechanisms and latent learning. 1968. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 65:197-201.
- Kromer, L.F., Bjorklund, A., y Stenevi, U., Intracerebral embryonic neural implants in the adult rat brain. I Growth and mature organization of brain stem, cerebellar and hippocampal implants. *J. Comp. Neurol.* 1983, 218: 433-459.
- Labbe, R., Firl, A. Mutson, E.J. and Stein, D.G. Fetal brain transplants reduction of cognitive deficit in rats with frontal cortex lesions. 1983, *Science* 221:470-472.
- Land, P.W. & Lund, R.D. Developments of the rat's uncrossed retinotectal pathway and its relation to plasticity studies. 1979, *Science*, 149:1506-1507.
- Lasiter, P. S., Cortical substrate of taste aversion learning: Direct amygdalocortical projections to the gustatory neocortex do not mediate CTA learning. 1982. *Phys. Psychol.* 10:377-383.
- Lasiter, P. S., Deems, D. A. & Glanzman, D. L. Thalamocortical relations in taste aversion learning. 1985, *Behav. Neurosci.*
- Lasiter, P.S. & Glanzman, D.L., Cortical substrates of taste aversion learning. 1985, *Behav. Neurosci.*, vol 99, 2:257-276.

- Le Vere, T.E., Recovery of function after brain damage: a theory of the behavioral deficit. 1980, *Physiol. Rev.*, 62: 297-306.
- Loesche, J. and Stewart, O. Behavioral correlates of denervation and reinnervation of the hippocampal formation of the rat: recovery of a interation performance following unilateral entorhinal cortex lesions. 1977, *Brain Res. Bull.*, 2:31-39.
- Lund, R.D. y Harvey, A.R., Transplantation of tectal tissue in rats. I. Organization of transplants and pattern of distribution of host afferent within them. 1981, *J. Comp. Neurol.*, 201: 191-209.
- Lund, R.D. y Simons. Retinal transplants: Structural and functional interrelations with the host brain. Neural grafting in the mammalian CNS. A Bjorklund y U.Stenevi, editors. 1985. Elsevier Science Publishers.
- Marshall, J.F., Richardson, J.J. and Teitelbaume, Nigrostriatal bundle damage and the lateral hypothalamic syndrome. 1974. *J.Comp Physiol. Psychol.*, 87:808-830.
- Mc Connell, S. K., Migration and differentiation of cerebral cortical neurons after transplantation into the brains of ferrets. *Science*. 1985, 229: 1268-1271.
- Mc Loon, S.C. y Lund, R. D., Loss of ganglion cells in fetal retina transplanted to rat cortex. *Develop. Brain Res.*, 1984, 12: 131-1135.
- Mc Loon, S.C., y Lund, R.D., Specific projections of retina transplanted to the rat brain. *Exp. Brain Res.*, 1980, 40: 273-282.
- Martin, J. R., Cheng, F. Y. & Novin, D., Acquisition of learned taste aversion following bilateral subdiaphragmatic vagotomy in rats. 1978, *Physiol. Behav.*, 21:13-17.
- Nachman, M. & Ashe, J.H. Effects of basolateral amygdala lesions on neophobia, learned taste aversions, and sodium appetite in rats. 1974, *J. Comp.Phys.Psychol.*, 87:622-643.
- Norgren, R. A synopsis of gustatory neuroanatomy. 1977, In *Olfaction and taste VI*. J. Le Mangel & P. Macleod, Eds. Information Retrieval. London.
- Norgren, R. & Leonard, C.M., Ascending central gustatory pathways. 1973, *J. Comp. Neurol.*, 150:217-238.
- Olton, D.S., Becker, S.T. and Handelman, G.E. Hippocampus space and memory. 1979, *Behav. Brain Sci.*, 2:313-365.



- Paxinos, G. and Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates, 1982. Academic Press.
- Perlow, M.I., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Saiger, A., Olson, Hoffer, B.J. and Wyatt, R.J. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. 1979. Science, 204:643-647.
- Ramírez, J.J. and Stein, D.G. Sparing and recovery of spatial alternation performance after entorhinal cortex lesions in rats. 1984, Behav. Brain Res., 13:53-61.
- Richter, C.P., Total self-regulatory function in animals and human beings. Harvey lecture series, 38:63-102. citado por Booth, D.A. en Food conditioned eating preferences and aversions with interoceptive elements. 1986. Annals of N.Y. Acad. Sci., 443:23-41.
- Schmidt, R.H., Bjorklund, A., Stenevi, U., Intracerebral grafting of dissociates CNS tissue suspension. 1991. Brain Res., 218:347-356.
- Schmidt, R.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U., and Bjorklund, A., Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating the striatum: Neurotransmitter metabolism and (C-14)-2-deoxy-D-glucose autoradiography. 1982, J. Neurochem. 38:737-748.
- So, K. F. and Schneider, G.E., Abnormal recrossing of fetinotectal projections after early lesions in Syrian Hamsters: a critical-age effect 1976, Anat. Rec., 184:535-536.
- Steedman, J.G., Harvey, A.G. y Lund, R.D., Efferent fiber projection from transplanted embryonic superior colliculus in rat. 1983. Soc. Neurosci, Abstr. 9: 374.
- Stein, G.D., Lübke, R., Firl, A. and Mufson, E.J. in Neural grafting in the mammalian CNS. A. Bjorklund and U. Stenevi, eds. 1985
- Stein, G.D., Finger, S. and Hart, T., Brain damage and recovery: Problems and Perspectives. 1983. Beh. Neural Biol. 37:185-222.
- Stenevi, U., Bjorklund, A. y Svendgaard, N.A., Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: Techniques and conditions for survival. Brain Research, 1976, 114:1-20.
- Sutherland, R.J., Wishaw, I.Q. and Regeher, J.C., Cholinergic receptor blockade impairs spatial localization using distal cues in the rat. 1982, J. Comp. Physiol Psychol., 96:563-573.