

11261
11261
1e
2

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

.....

FACULTAD DE MEDICINA

MODULACION CENTRIFUGA DE LA ACTIVIDAD ELECTRICA DEL BULBO
OLFATORIO POR AFERENCIAS GASTRICAS

Méd. Cir. David Erasmo García Díaz

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOMEDICAS, FISILOGIA

México, D. F., abril de 1986

FALLA DE CF'GEN



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.....	vi
CAPITULO 1	INTRODUCCION	
1.1	Antecedentes.....	1
1.2	Planteamiento del Problema.....	16
1.3	Hipótesis de Trabajo.....	19
CAPITULO 2	METODO	
2.1	Potenciales Provocados: Nervio Vago - Bulbo Olfatorio.....	21
2.2	Actividad Unitaria: Nervio Vago - Bulbo Olfatorio.....	26
2.3	Peroxidasa de Rábano: Bulbo Olfatorio.....	31
2.4	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Bulbo Olfatorio.....	34
2.5	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Hipotálamo Lateral.....	38

2.6	Potenciales Provocados: Nervio Vago - Núcleo del Tracto Solitario, Hipotálamo Lateral, Bulbo Olfatorio.....	40
2.7	Potenciales Provocados: Núcleo del Tracto Solitario - Bulbo Olfatorio.....	44
2.8	Potenciales Provocados: Núcleo del Tracto Solitario - Hipotálamo Lateral.....	46
2.9	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Núcleo del Tracto Solitario.....	48
2.10	Iontoforesis: Acetilcolina - Bulbo Olfatorio	51

CAPITULO 3 RESULTADOS

3.1	Potenciales Provocados: Nervio Vago - Bulbo Olfatorio.....	54
3.2	Actividad Unitaria: Nervio Vago - Bulbo Olfatorio.....	58
3.3	Peroxidasa de Rábano: Bulbo Olfatorio.....	66
3.4	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Bulbo Olfatorio.....	69
3.5	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Hipotálamo Lateral.....	77

3.6	Potenciales Provocados: Nervio Vago - Núcleo del Tracto Solitario, Hipotálamo Lateral, Bulbo Olfatorio.....	80
3.7	Potenciales Provocados: Núcleo del Tracto Solitario - Bulbo Olfatorio.....	89
3.8	Potenciales Provocados: Núcleo del Tracto Solitario - Hipotálamo Lateral.....	90
3.9	Actividad Unitaria: Distensión Gástrica - Núcleo del Tracto Solitario.....	92
3.10	Iontoforesis: Acetilcolina - Bulbo Olfatorio	95
CAPITULO 4	DISCUSION.....	98
CAPITULO 5	CONCLUSIONES.....	114
REFERENCIAS	117

RESUMEN

A fin de estudiar la modulación centrifuga de la actividad eléctrica del bulbo olfatorio por aferencias gástricas se utilizaron las técnicas de potenciales provocados, actividad unitaria extracelular, microiontoforesis y peroxidasa de rábano en ratas anestesiadas. Las modificaciones de la actividad del bulbo olfatorio (BO), el hipotálamo lateral (HL) y la porción rostral del núcleo del tracto solitario (NTS) fueron registradas bajo los efectos de la estimulación del nervio vago (NV) cervical y de la distensión de las paredes gástricas. Al estimular el NV se registró un potencial provocado en el BO con una latencia al pico de 15 mseg. La mayoría de las unidades neuronales de esta estructura que respondieron a la estimulación del NV, disminuyeron o suprimieron su frecuencia de descarga por la aplicación de trenes o de pulsos únicos. Dicha supresión de la descarga unitaria sólo se presentó durante el componente negativo del potencial provocado bulbar. En los sitios donde se registraron unidades que respondieron a la estimulación vagal se aplicó peroxidasa de rábano iontoforéticamente, encontrándose

neuronas marcadas sólo en la capa periglomerular del BO. Ya que estos datos sugirieron la existencia de una vía NV-BO, se aplicó distensión gástrica encontrándose también modificación de la frecuencia de descarga unitaria de la capa periglomerular bulbar. En general, la frecuencia de estas unidades disminuyó por la distensión gástrica y la latencia de su respuesta fue menor de un segundo. El mismo sitio de registro unitario respondió tanto a la distensión gástrica como a la estimulación vagal y el efecto producido por la distensión gástrica fue abolido o atenuado por vagotomía a nivel cervical. El volumen intragástrico mínimo para obtener un cambio en la frecuencia de descarga unitaria del BO fue de 3 ml, mientras que para el HL y el NTS fue de 2 ml. En contraste, la respuesta comúnmente observada en el NTS fue un incremento de la actividad unitaria, mientras que en el HL y en el BO fue un decremento. Sin embargo, cuando la distensión gástrica se realizó con más de 8 ml se observó un incremento en la descarga unitaria del BO en lugar de un decremento. Estos datos sugirieron que la modulación centrifuga del BO que se ejerce a nivel periglomerular, es función de aferencias vagales de origen visceral. Al estimular el NV, el potencial provocado lento del BO, de 15 mseg de latencia, se registró en la capa periglomerular mientras que en la capa granulosa apareció un componente rápido. La lesión electrofítica del NTS anuló el potencial lento del BO, mientras que el potencial provocado en el HL por la misma estimulación no se alteró. Esto indica que la

vía NV-BO probablemente viaja a través del NTS y no a través del HL, aunque no se descartan proyecciones adicionales para esta última estructura. En un intento por conocer la naturaleza química de la propuesta vía NV-BO, se determinó que las neuronas de la capa periglomerular del BO son sensibles a la aplicación microiontóforética de acetilcolina. Muchas otras interrogantes deberán resolverse en futuros experimentos, sin embargo, es probable que una vía neural relativamente corta esté mediando cambios en el BO y en otras estructuras límbicas y diencefálicas. Estas últimas, participando como zonas integradoras de procesos que gobiernan la percepción olfatoria y la ingestión hídrica y alimenticia en estos roedores.

1. INTRODUCCION

1.1 ANTECEDENTES

Antecedentes tempranos para el presente estudio datan de casi un siglo; Ramón y Cajal en un antiguo reporte describió la presencia de fibras nerviosas que procedentes de áreas centroencefálicas, alcanzaban la región bulbar de la vía olfatoria (Ramón y Cajal, 1890). Este hallazgo, aunado a otras observaciones contemporáneas y ulteriores, comenzó a constituir el conocimiento de las fibras nerviosas que ya desde esa época serían denominadas centrífugas; mayores descripciones en trabajos del mismo autor aparecieron publicadas en los años de 1904, 1909 y 1911. Sin embargo, la presencia de influencias centrífugas sobre vías sensitivas, lejos de ser privativa del sistema olfatorio, encuentra en distintas épocas numerosos ejemplos en otros sistemas y en diversas especies; en ellos, con el devenir del tiempo los conocimientos histológicos, electrofisiológicos y ultraestructurales, se han complementado en un intento formidable

para tratar de comprender íntegramente los complejos procesos neurales. Baste citar como otros ejemplos del tema que nos ocupa: las fibras nerviosas centrifugas de la retina (Ramón y Cajal, 1909), la influencia facilitadora de las fibras eferentes gamma sobre el huso muscular (Hunt y Kuffler, 1951) y la influencia inhibidora ejercida por la oliva superior sobre los receptores cocleares a través del haz olivo-coclear (Fex, 1962). Como resultado de múltiples estudios, en el contexto morfológico se ha fortalecido la idea de que prácticamente todas las vías sensitivas poseen fibras eferentes, es decir, del neuroeje a los órganos efectores (Livingstone, 1959); en el contexto electrofisiológico, se sabe que las señales aferentes sufren importantes modificaciones a lo largo de cada vía, antes de alcanzar las regiones centroencefálicas (Livingstone, 1959; Hernández-Peón, 1961). En este sentido, se ha afirmado que el sistema nervioso es capaz de controlar la información que le llega de los diversos receptores (Alcocer-Cuarón y Aréchiga, 1968).

No en todos los sistemas sensoriales ha sido posible seguir las terminaciones nerviosas centrifugas hasta el receptor mismo; sin embargo, es ya copiosa la literatura que habla de terminaciones en niveles superiores a la primera sinapsis; tal es el caso del sistema olfatorio, como veremos adelante. De la misma manera, en este último sistema no ha sido posible demostrar plenamente las estructuras nerviosas que modulan centrifugamente

su actividad; existe incertidumbre en algunos niveles precisos de modulación, y por supuesto, en su posible papel funcional. Ahora bien, en un intento por ahondar un poco más en los complicados mecanismos neurales de manejo de información y abordando el estudio la modulación centrífuga del sistema olfatorio, se contempla una revisión sucinta de los aspectos relevantes de este apartado.

El bulbo olfatorio es la primera estación de relevo en el sistema olfatorio; sus células, axones y dendritas se encuentran dispuestos en distintas capas de manera muy similar a como ocurre en la retina; por ejemplo, en este sitio se encuentran las neuronas secundarias que son las células mitrales y empenachadas; las dendritas de estas células y las terminaciones nerviosas procedentes de los receptores olfatorios constituyen las complejas sinapsis denominadas glomérulos olfatorios. Principalmente, axones de las células mitrales pasan de los glomérulos, a través de la estria olfatoria lateral, hasta la corteza prepiriforme y el complejo amigdalino; otros axones de las células mitrales y empenachadas, a través de la estria olfatoria intermedia, terminan en la substancia perforada anterior y la banda diagonal. Existen además, conexiones entre ambos bulbos olfatorios que desde los núcleos olfatorios anteriores, a través de la comisura anterior, terminan en el bulbo olfatorio contralateral (Ottoson, 1983).

De una compilación interesante, con trabajos que llegan de diversas fuentes, en la figura 1 se ilustran las principales terminaciones centrales de la vía olfatoria (Ottoson, 1983). En las figuras 2 y 3 se aprecian las interconexiones de los bulbos olfatorios que se realizan a través de la comisura anterior.

En los últimos años se han incrementado los estudios que tratan del origen de influencias centrifugas sobre las estructuras olfatorias (Broadwell y Jacobowitz, 1976; Dennis y Kerr, 1976; De Olmos y cols., 1978; Heimer, 1968; Nakashima y cols., 1978; Shafa y Meisami, 1977). Asimismo, se ha estudiado la influencia del hipotálamo sobre la actividad eléctrica de la vía olfatoria (Aguilar-Baturoni y cols., 1976; Guevara-Aguilar y Aguilar-Baturoni, 1978). Ya que el hipotálamo lateral es una estructura de múltiples y recíprocas vías entre regiones límbicas anteriores y mediales (Morgane, 1964; Wayner, 1974; Wayner y cols., 1978), al estudiar las proyecciones olfatorias hacia el hipotálamo lateral y el área preóptica mediante la técnica histológica de la peroxidasa de rábano, se ha confirmado una estrecha relación entre el hipotálamo y el sistema olfatorio (Barone y cols., 1981; Wayner y cols., 1980).

En la figura 4 se muestran los diversos elementos neuronales que conforman el bulbo olfatorio; nótese en ella la llegada de fibras tanto aferentes, procedentes de los receptores olfatorios, como centrales de tres orígenes: fibras centrifugas de la banda

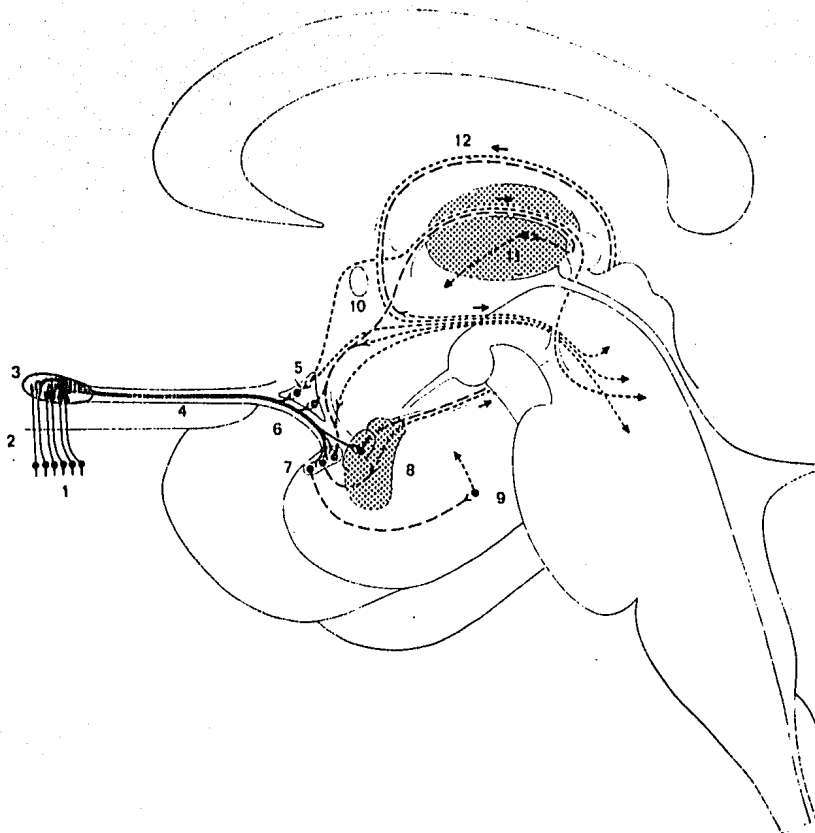


Fig. 1 Diagrama de las vías olfatorias centrales: 1, capa de receptores olfatorios; 2, nervios olfatorios; 3, bulbo olfatorio; 4, tracto olfatorio; 5, tubérculo olfatorio; 6, estría olfatoria; 7, corteza prepiriforme; 8, complejo amigdaloides; 9, hipotálamo; 10, comisura anterior; 11, tálamo; 12, estría terminal. Tomada de Otoson, 1983.

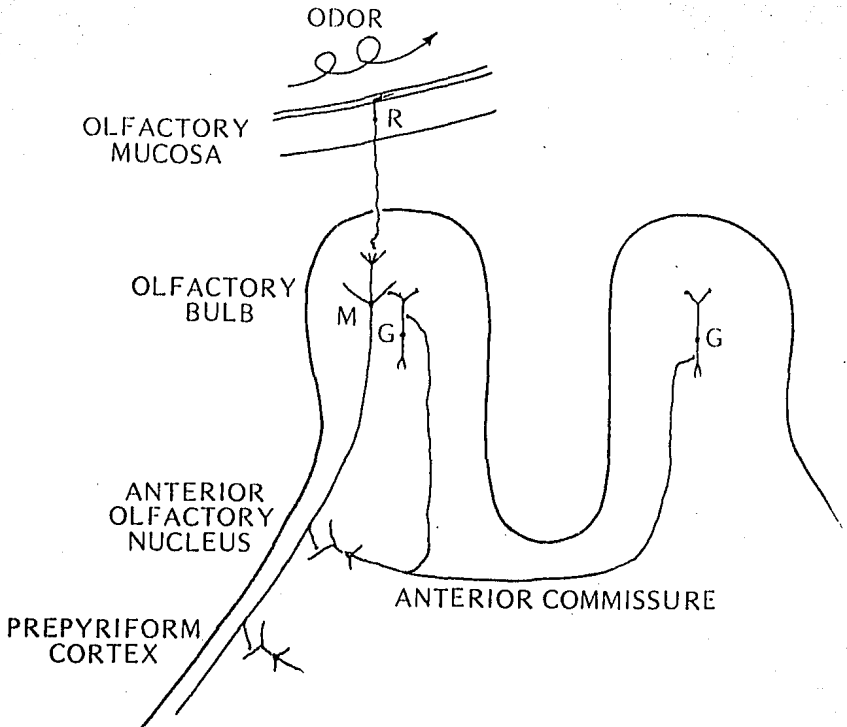


Fig. 2 Diagrama que muestra las principales conexiones de los bulbos olfatorios. R, célula receptora olfatoria; M, célula mitral; G, célula granulosa. Tomada de Shepherd, 1979.

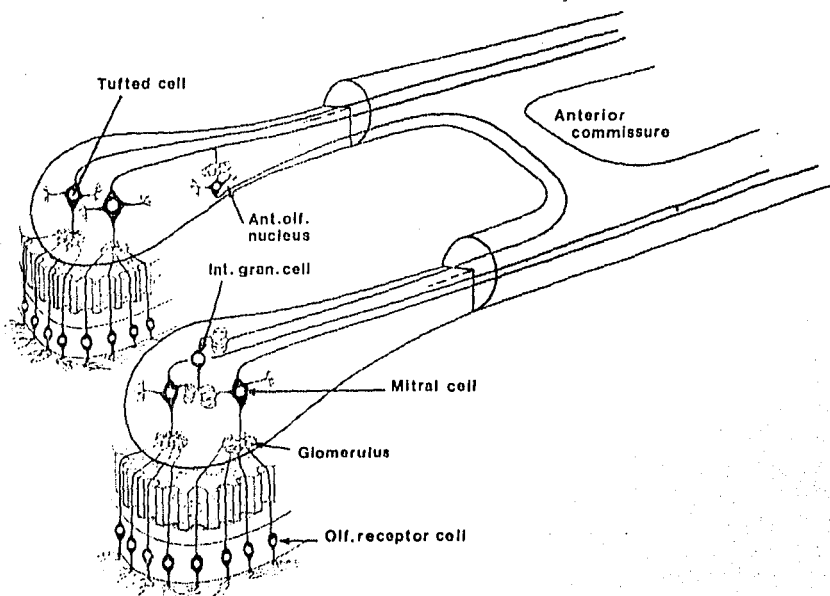


Fig. 3 Diagrama que ilustra las interconexiones de los bulbos olfatorios a través de la comisura anterior. Tomado de Ottoson, 1983.

diagonal, fibras ipsilaterales del núcleo olfatorio anterior y fibras contralaterales de la comisura anterior. En la misma figura se aprecian también las neuronas principales: células mitrales y empenachadas, y las neuronas intrínsecas: células periglomerulares de axón corto, células profundas de axón corto y células granulosas (Shepherd, 1979).

En la figura 5 se muestra un esquema que ilustra las características fundamentales de la organización sináptica de las neuronas del bulbo olfatorio. La figura 6 hace notar las conexiones sinápticas recíprocas en la misma estructura. La figura 7 es un diagrama del circuito básico del bulbo olfatorio.

Por otra parte, las conexiones hipotalámicas-olfatorias se han involucrado en la modulación de la conducta alimenticia (Pager, 1978). Al respecto, se ha demostrado que la actividad de las neuronas hipotalámicas está modulada por la estimulación odorífera (Scott y Pfaffman, 1972) y que la distensión del estómago ejerce una influencia sobre las neuronas hipotalámicas laterales, mismas que son sensibles a estímulos olfatorios (Kogure y cols., 1978). Además, la actividad neuronal hipotalámica lateral y preóptica lateral puede ser modulada por la estimulación del nervio vago y la distensión gástrica (Barone y cols., 1979a; Barone y cols., 1979b). En este contexto, cabe agregar que tanto las señales olfatorias (Alberts, 1974; Larue y Le Magnen, 1972) como el nervio vago (Novin, 1976), se han

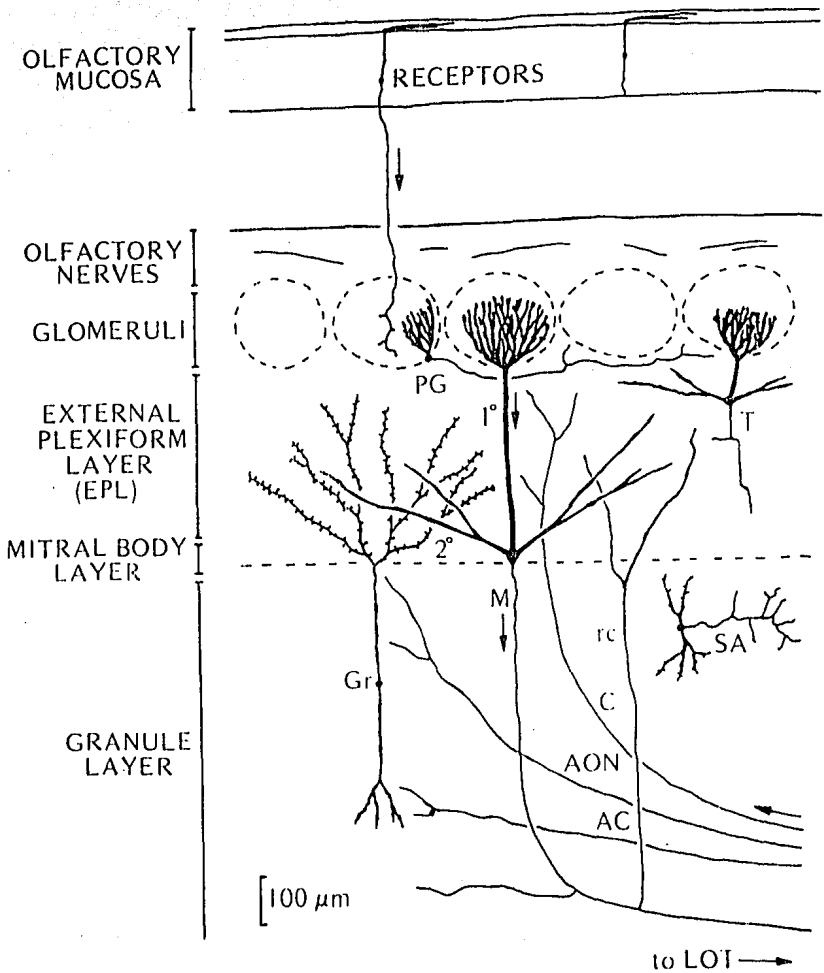


Fig. 4 Elementos neuronales del bulbo olfatorio de mamíferos. Fibras centrifugas de la banda diagonal (C), fibras ipsilaterales del núcleo olfatorio anterior (AON) y fibras contralaterales de la comisura anterior (AC). Célula mitral (M), con dendrita primaria (1°), secundaria (2°) y axones recurrentes colaterales (rc); célula empenachada (T); célula periglomerular de axón corto (PG); célula profunda de axón corto (SA) y célula granulosa (Gr). LOT, tracto olfatorio lateral. Tomada de Shepherd, 1979, basada en Ramón y Cajal, 1911; Price y Powell, 1971; Pinching y Powell, 1972; Shepherd, 1972.

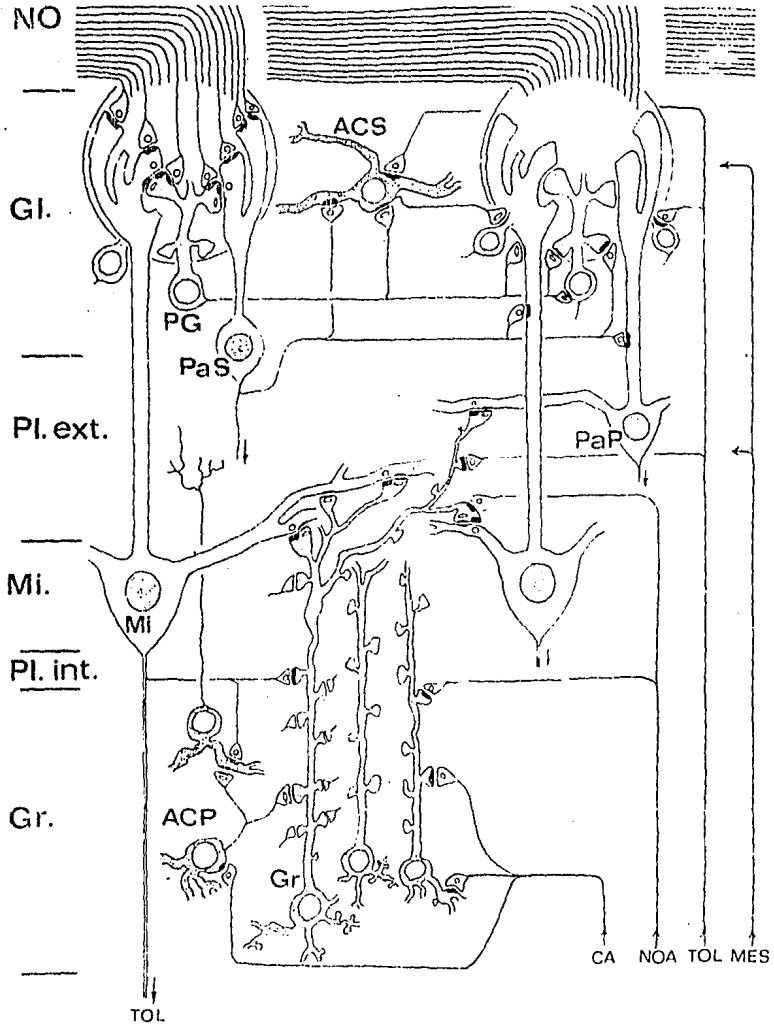


Fig. 5 Diagrama esquemático de la organización sináptica de las neuronas del bulbo olfatorio. NO, nervios olfatorios; Gl, glomérulos; Pl. ext., capa plexiforme externa; Mi, célula mitral; Pl. int., capa plexiforme interna; Gr, capa de células granulosas; ACS, células superficiales de axón corto; PG, célula periglomerular; PaS, célula empenachada superficial; PaP, célula empenachada profunda; ACP, célula profunda de axón corto; CA, fibras de la comisura anterior; NOA, fibras del núcleo olfatorio anterior; TOL, tracto olfatorio lateral; MES, fibras del mesencéfalo. De Holley y MacLeod, 1977.

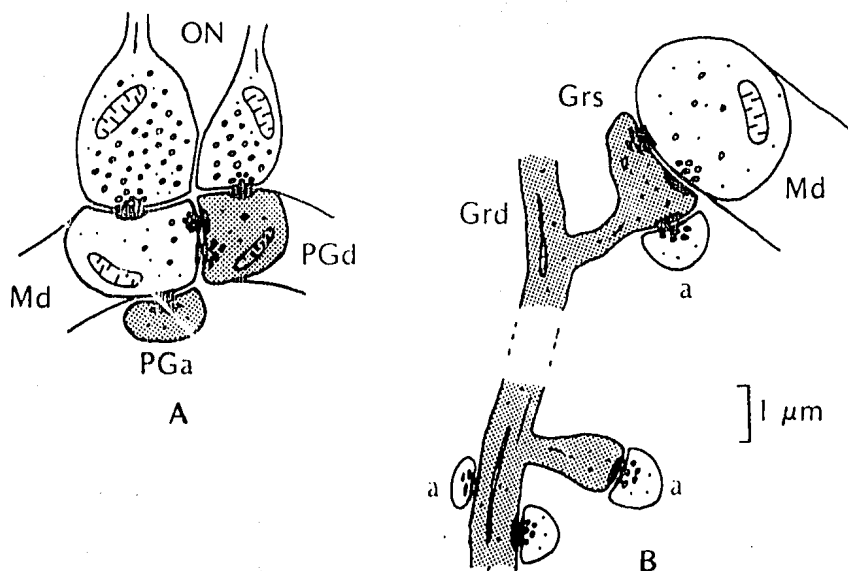


Fig. 6 Conexiones sinápticas en el bulbo olfatorio de mamíferos. A: conexiones axodendríticas y dendrodendríticas en los glomérulos olfatorios; ON, nervio olfatorio; Md, dendrita mitral; PGd, dendrita de la célula periglomerular; PGa, axón de la célula periglomerular. B Arriba: conexiones dendrodendríticas en la capa plexiforme externa entre una dendrita secundaria mitral (Md) y una espina dendrítica de la célula granulosa (Grs); nótese la conexión axodendrítica centrífuga sobre la espina. B Abajo: conexiones axodendríticas en la capa granulosa. Tomada de Shepherd, 1979, Rall y cols., 1966; Price y Powell, 1970.

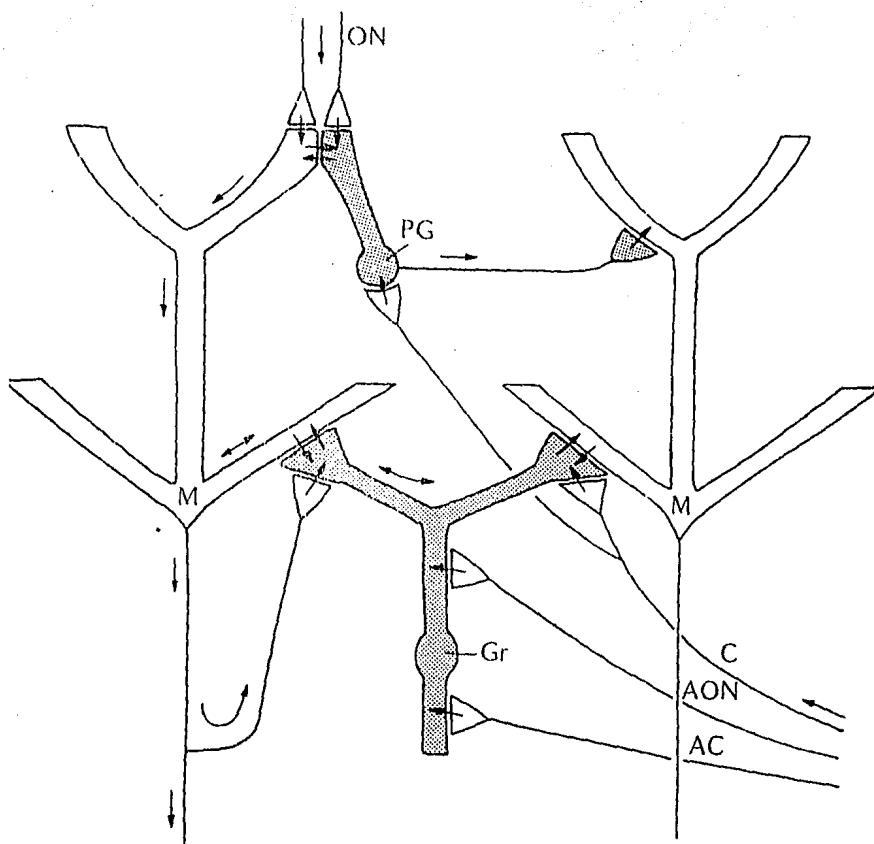


Fig. 7 Diagrama del circuito básico del bulbo olfatorio de mamíferos. ON, nervio olfatorio; M, célula mitral; PG, célula periglomerular; Gr, célula granulosa; C, fibras centrifugas de la banda diagonal; AON, fibras del núcleo olfatorio anterior; AC, fibras de la comisura anterior. Tomada de Shepherd, 1979.

involucrado en la regulación de la ingesta alimenticia, y que la estimulación del nervio vago produce ingestión en animales saciados (Peñaloza-Rojas y cols., 1969). Se ha mencionado que esta estimulación también es capaz de modular la actividad neuronal hipotalámica (Barone y cols., 1979b).

La percepción del sabor de los alimentos y la ingestión de los mismos, dependen de las sensaciones olfativas, gustativas y viscerales (Larue y Le Magnen, 1972; Payer, 1978a; Payer y cols., 1972; Strom y Uvnäs, 1950); así por ejemplo, el olor de los alimentos incrementa las respuestas del bulbo olfatorio en ratas privadas de comida, en comparación con las respuestas observadas en animales saciados. Ya que es bien conocido que el hipotálamo lateral está involucrado en la conducta alimenticia, es congruente que la distensión del estómago tenga efectos en células de esta parte del cerebro. La distensión del estómago ejerce efecto sobre la actividad de las neuronas hipotalámicas; este efecto es eliminado por vagotomía y simulado por la estimulación eléctrica del nervio vago (Anand y Pillai, 1967; Barone y cols., 1979b). Además, se ha descrito que las descargas aferentes del nervio vago son proporcionales a la distensión gástrica (Colin-Jones y Hainsworth, 1970; Davidson, 1972), y que la infusión intragástrica de agua (Barone y cols., 1979a) y de otras perfusiones alimentarias (Maddison y Horrell, 1979) también afecta la actividad del hipotálamo lateral.

Otras investigaciones han demostrado que las señales originadas por la distensión de las paredes gástricas, son transportadas por aferencias vagales hasta el núcleo del tracto solitario (Gwyn, 1979), donde ocurren sinápsis adicionales para el núcleo parabraquial y otras partes del cerebro. Ya que la porción rostral del núcleo del tracto solitario recibe aferencias de la lengua y de la mucosa orofaríngea a través de los pares craneales V, VII, IX y X (Blomquist y Antem, 1965; Nosaka y cols., 1978), es indudable que este núcleo se encuentra involucrado en el gusto y probablemente en la ingestión. Esta porción del núcleo del tracto solitario establece conexiones directas con estructuras hipotalámicas y amigdaloides relacionadas con la ingestión (Gwyn y cols., 1979; Ricardo y Koh, 1978).

La distensión del estómago resulta en efectos neurales complejos involucrando los nervios vago y esplácnico y las conexiones simpáticas cervicales (Zarco de Coronado, I. y cols., 1984); tales efectos también dependen del grado de distensión y la temperatura del fluido. Paintal, en 1954 describió que la distensión activa mecanoreceptores en la pared del estómago; algunos de estos receptores están inervados por axones aferentes del nervio vago cuyos somas se localizan en el ganglio nodoso y sus axones centrales terminan principalmente en el núcleo del tracto solitario (Scharoun y cols., 1984). Ocurren además conexiones ascendentes, tanto en el tallo cerebral como en las

neuronas autonómicas preganglionares (Leslie y cols., 1982). Las células del núcleo del tracto solitario proyectan a su vez a diversas porciones encefálicas como el área parabraquial, la estria terminal, los núcleos paraventricular, dorsomedial y arcuato del hipotálamo, el núcleo central del complejo amigdalóide, el área preóptica medial y el núcleo paraventricular del tálamo (Ricardo y Koh, 1978). También la sustancia gris periacueductal está involucrada en una vía que va desde el núcleo del tracto solitario hasta el hipotálamo lateral (Zarco de Coronado y cols., 1982).

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Bajo circunstancias normales, generalmente tomamos nuestros alimentos a determinadas horas mientras que durante los intervalos comprendidos entre las comidas prácticamente no ocurre ingestión; un patrón similar de conducta alimenticia puede observarse en ratas de laboratorio (Wayner y cols., en preparación). En ambos casos se suspende la ingestión aún antes de que los nutrientes sean totalmente absorbidos; inclusive, lo anterior puede ocurrir a pesar de que el volumen del alimento ingerido permanece en el estómago relativamente constante. Esto significa que algún mecanismo debe encargarse de medir la cantidad de alimento deglutido produciendo un control preciso de la ingestión. En la ingestión "ad libitum" de las comidas ordinarias, la detención de la ingesta parece involucrar principalmente el estómago mientras que la boca y el duodeno son relativamente poco importantes. Durante la ingestión alimenticia, parecen originarse en el estómago dos tipos de señales: aquellas dependientes de la distensión gástrica y otras debidas a un factor desconocido probablemente relacionado con la

cantidad de los nutrientes, independientemente de su volumen o dilución (Deutsch, 1983). Las consideraciones sobre ingestión de líquidos son similares, excepto que en la ingestión de agua sólo la distensión gástrica debe estar involucrada.

Existe una estrecha relación entre el sistema olfatorio y el hipotálamo. Si bien, la actividad de las neuronas hipotalámicas está modulada por la estimulación odorífera y la distensión gástrica ejerce influencia sobre la actividad de las neuronas hipotalámicas laterales, mismas que son sensibles a los estímulos olfatorios, es congruente el propósito aquí planteado de estudiar la respuesta de las neuronas olfatorias a la estimulación vagal. Ahora bien, si es posible demostrar una relación entre el nervio vago y el sistema olfatorio, su significado funcional puede determinarse en términos de distensión gástrica. Aún más, la distensión del estómago origina señales que viajando a través del nervio vago alcanzan el núcleo del tracto solitario, y éste a su vez conecta con el hipotálamo y otras estructuras relacionadas con la ingestión. Por lo tanto, parte de la modulación de la actividad eléctrica del sistema olfatorio puede realizarse a través de esta vía, dada su relación con el hipotálamo. De lo anteriormente expuesto se desprende que: la distensión gástrica, el nervio vago, el núcleo del tracto solitario y el sistema olfatorio, entre otras estructuras como el hipotálamo, pueden constituir parte importante del circuito neural encargado del

control de los complejos mecanismos que gobiernan conducta alimenticia en los mamíferos.

1.3 HIPOTESIS DE TRABAJO

Dados los antecedentes expuestos en la sección 1.1, los cuales refieren que existen: a) terminaciones nerviosas centrifugas en el bulbo olfatorio; b) conexiones hipotálamo-sistema olfatorio y, c) modificaciones de la actividad eléctrica del núcleo del tracto solitario y del hipotálamo por la distensión de las paredes gástricas y la estimulación vagal, puede emitirse la siguiente hipótesis.

Existen aferencias nerviosas viscerales, en particular las de origen gástrico, que viajando hasta estructuras integradoras del prosencéfalo y el sistema límbico, producen una respuesta que regula la actividad eléctrica del sistema olfatorio, en particular la del bulbo olfatorio. De esta manera, si la estimulación vagal afecta la actividad eléctrica del bulbo olfatorio, existe una conexión neural entre estas dos estructuras. Si tal efecto es reproducido por la distensión de las paredes del estómago que tienen una inervación vagal importante, ciertas aferencias vagales viscerales que afectan la

actividad del bulbo olfatorio se originan en esta porción del área esplácnica. Si el hipotálamo lateral y el núcleo del tracto solitario experimentan también los efectos de la estimulación vagal y de la distensión de las paredes gástricas, estas estructuras son sitios de relevo sináptico de la información mecanorreceptiva o bien, se trata de centrales integradoras de las aferencias viscerales que se transmiten a través del nervio vago. Por otra parte, si la estimulación de cualquiera de estas dos estructuras reproduce los efectos de la estimulación vagal y de los mecanorreceptores gástricos sobre el bulbo olfatorio, la información visceral viaja a través de estas estructuras. Finalmente, si la lesión de cualquiera de las estructuras citadas, nervio vago, núcleo del tracto solitario e hipotálamo lateral, suprime los efectos producidos en el bulbo olfatorio por la distensión gástrica o la estimulación vagal, es muy probable que estas estructuras formen parte de una vía nervio vago-bulbo olfatorio.

La concepción de tal posibilidad constituyendo parte de un sistema más complejo, encuentra su probable papel funcional en los mecanismos neurales responsables de la percepción olfatoria y la modulación de la conducta alimenticia asociados con la distensión de las paredes gástricas y relacionados con las condiciones de ayuno, saciedad y estados postprandiales de estos roedores.

2. METODO

2.1 POTENCIALES PROVOCADOS: NERVIO VAGO - BULBO OLFATORIO

Ya que un aspecto primordial para este estudio es obtener una evidencia electrofisiológica de que existe una conexión neural entre el X par craneal y el sistema olfatorio, se realizó esta primera serie de experimentos con el objeto de probar si es posible provocar un potencial en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago.

Esta serie experimental se realizó en 10 ratas Wistar machos de 280 a 320 g, anestesiados con hidrato de cloral a dosis de 400 mg/Kg. Primeramente, se colocó el animal en decúbito dorsal y se practicó una incisión longitudinal media a nivel del cuello; se le realizó traqueostomía y se le colocó una cánula endotraqueal. Enseguida, se le disecó cuidadosamente el nervio vago en su trayecto cervical separándolo de la arteria carótida y

el nervio simpático. Inmediatamente después, se le implantó un electrodo de estimulación para nervios periféricos (Barone y cols., 1979c) en el nervio vago disecado cubriéndolo con con aceite mineral y suturándolo a nivel de piel en un solo plano. A continuación, se probó la correcta aplicación del electrodo produciendo bradicardia por la estimulación eléctrica del nervio vago.

Una vez implantado el electrodo de estimulación, se montó el animal en un aparato estereotáxico descubriéndole la superficie craneal y colocando las suturas bregma y lambda a la misma altura. De esta forma, el cráneo quedó orientado en un plano horizontal. En la piel a nivel del tórax se colocaron dos electrodos a fin de monitorear continuamente la frecuencia cardíaca y respiratoria. Un electrodo adicional conectado a un teletermómetro permitió el registro continuo de la temperatura rectal. El mantenimiento de la temperatura corporal se realizó colocando la preparación sobre una cobija eléctrica alimentada por una fuente de corriente directa. La temperatura rectal se mantuvo constante en $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Mediante técnica estereotáxica se tomaron las coordenadas para el bulbo olfatorio (Pellegrino y cols., 1979) homolateral al nervio vago implantado: anterior 7.5 a 8.3 mm de Bregma, lateral 0.5 a 1.5 mm de la sutura sagital y altura 0.0 a 3.4 mm desde la superficie pial en un trayecto vertical. El cráneo se horadó

mediante una fresa dental en estas coordenadas y bajo microscopio estereoscópico se retiraron las meninges. En este sitio se implantó un electrodo bipolar de platino trenzado, el cual tuvo una separación de 0.5 mm en sus puntas. Este electrodo de registro se manejó a control remoto mediante un micromanipulador hidráulico.

El electrodo implantado en el nervio vago se conectó a un sistema convencional de estimulación por pulsos cuadrados, mientras que el electrodo de registro se conectó a un sistema de amplificación y filtrado, también convencional, observando el registro en la pantalla de un osciloscopio de rayos catódicos de la cual se hicieron tomas fotográficas mediante una cámara quimográfica. El amplificador de AC empleado tuvo una constante de tiempo de 0.1 a 0.16 de mseg. La conexión del electrodo de registro al sistema de amplificación, se realizó de tal forma que un pulso de polaridad positiva en solución salina, inscribiera un trazo hacia arriba de la línea de base en la pantalla del osciloscopio; esto permitió identificar las polaridades de cada potencial registrado. El potencial provocado que se consideró en el análisis de este estudio fue obtenido mediante un registro bipolar. Después de una serie de pruebas, los pulsos de estimulación se fijaron de la siguiente manera: intensidad de 0.8 a 1.5 mA y duración de 0.2 mseg; se encontró que estos parámetros fueron suficientes para modificar la actividad

eléctrica del bulbo olfatorio, sin alterar la frecuencia cardíaca o respiratoria.

Mediante el micromanipulador se descendió el electrodo de registro en forma vertical en pasos de 200 μm con el objeto de explorar todas las capas del bulbo olfatorio. En cada sitio registrado se estimuló el nervio vago con pulsos únicos. Una vez que se encontró el sitio donde se registró la mayor magnitud del potencial provocado por la estimulación vagal, se realizaron pruebas de intensidad creciente y se invirtió la polaridad del estímulo con el propósito de probar la reproducibilidad de dicho potencial provocado. En todos los registros para considerar efecto positivo, se observó la reproducción del trazo en por lo menos tres ocasiones; después de esto, se hicieron las tomas fotográficas. La latencia de cada potencial provocado se midió desde el momento en que apareció el artefacto de estimulación, hasta la magnitud máxima del potencial; este tiempo fue considerado como latencia al pico.

En tres animales de esta serie de experimentos se realizó además vagotomía por arriba del sitio de estimulación y se repitió la estimulación vagal, a fin de observar la desaparición del potencial provocado en el bulbo olfatorio.

Al concluir cada experimento, se marcó en el bulbo olfatorio el sitio correspondiente a la punta del electrodo de registro

pasando a través del mismo corriente directa 15-40 μ A durante 10 segundos. Se sacrificó el animal con una sobredosis de anestésico y se perfundió por vía intracardiaca con las siguientes soluciones: lavadora, solución salina al 0.9% 150 ml y fijadora, formada por 2/3 de formol al 10% y 1/3 de ferrocianuro de potasio 150 ml. Se extrajo el cerebro, dejándose reposar hasta 24 horas en solución de formol al 10% antes de su análisis histológico.

Cada cerebro fue analizado histológicamente en cortes de 60 μ m de grosor teñidos con rojo neutro. En ellos se localizó al microscopio el sitio correspondiente a la punta del electrodo de registro conforme a la técnica descrita por Guzmán-Flores y cols., 1958. El sitio marcado se identificó en el atlas estereotáxico del cerebro de rata publicado por Pellegrino y cols., 1979.

Los experimentos de control se realizaron en 5 ratas adicionales registrando bajo las mismas condiciones, la actividad de campo de la zona donde registró el potencial provocado por la estimulación vagal; en este caso, la estimulación se aplicó en el nervio ciático ipsilateral al bulbo olfatorio registrado.

2.2 ACTIVIDAD UNITARIA: NERVIIO VAGO-BULBO OLFATORIO

Una vez que se comprobó la existencia de un potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago ipsilateral, se procedió a estudiar los efectos de la misma estimulación sobre la actividad unitaria de esta región olfatoria.

Estos experimentos se realizaron en 50 ratas Wistar machos de 290-350 g, anestesiados con hidrato de cloral a dosis de 400 mg/Kg. La traqueostomía, la implantación de la cánula endotraqueal, la implantación del electrodo de estimulación en el nervio vago, la trepanación a nivel del bulbo olfatorio homolateral, el método estereotáxico, el monitoreo de la frecuencia cardíaca y respiratoria y el mantenimiento de la temperatura corporal se realizaron en forma similar al procedimiento descrito en la sección 2.1.

El electrodo de registro consistió en una micropipeta de vidrio con diámetro de punta de 3 a 5 μm , que se llenó con

solución de NaCl 2 M saturada con verde rápido; su resistencia medida en solución salina fue de 5 a 10 megohms.

La micropipeta montada en un micromanipulador hidráulico, se conectó mediante un alambre de plata clorurada a una sonda de alta impedancia y de aquí, a un sistema de amplificación y filtrado convencional. La señal registrada se observó en la pantalla de un osciloscopio de rayos catódicos de la cual se hicieron tomas fotográficas y simultáneamente, se grabó en cintas magnetofónicas para su análisis posterior. Un audiomonitor, facilitó la búsqueda de la actividad eléctrica de las unidades neuronales.

Mediante el micromanipulador manejado a control remoto, se exploraron verticalmente la totalidad de las capas del bulbo olfatorio. Las coordenadas estereotáxicas fueron: anterior 7.5 a 8.3 mm de bregma, lateral 0.5 a 1.5 mm de la sutura media y altura 0.0 a 3.5 mm desde la superficie pial. En cada sitio que se registró actividad eléctrica unitaria extracelular, se probó el efecto de la estimulación vagal sobre la frecuencia de descarga unitaria. La estimulación eléctrica del nervio vago cervical, se realizó mediante pulsos cuadrados en dos modalidades: trenes de 2 segundos de duración con frecuencias de 10 a 80 Hz y pulsos únicos. Cada pulso tuvo una duración constante de 0.2 de msec y una intensidad de 0.8 a 1.5 mA. Se observó que estos parámetros de estimulación fueron capaces de

producir modificaciones en la actividad unitaria del bulbo olfatorio sin alterar la frecuencia cardíaca o respiratoria, de manera análoga a aquella descrita en la sección precedente. En 10 animales de esta serie experimental se realizó además vagotomía cervical por arriba del sitio de estimulación, a fin de abolir el efecto producido sobre la actividad unitaria del bulbo olfatorio.

Al concluir cada experimento se pasó corriente negativa directa de 15 μ A durante 15 minutos a través del electrodo de registro, con el fin de depositar verde rápido en el sitio del tejido correspondiente a la punta de la micropipeta. A continuación, el animal fue sacrificado con una sobredosis de anestésico. La rutina de perfusión intracardiaca y la técnica de análisis histológico de los cerebros se describieron en la sección previa; sólo que en este caso, la solución fijadora no contuvo ferrocianuro de potasio. El verde rápido depositado en el tejido permitió determinar las zonas del bulbo olfatorio que respondieron a la estimulación vagal.

La señal almacenada en cintas magnetofónicas, se hizo pasar a través de un analizador de amplitudes a fin de eliminar el ruido de fondo y realizar sólo el análisis de las espigas correspondientes a la actividad unitaria. La señal resultante se capturó en una microcomputadora por medio de un convertidor analógico-digital; el análisis se basó en el tiempo de aparición

de cada espiga almacenado en discos flexibles. Se construyeron histogramas periestimulo tanto de trazos con trenes de estimulación, como de pulsos únicos; en estos últimos se hicieron superposiciones de 10 barridos. Para considerar efecto positivo producido por la estimulación vagal en cada unidad registrada, se adoptaron los siguientes criterios: a) reproducción del mismo cambio de frecuencia de descarga en por lo menos tres ocasiones consecutivas; b) cambio de esta frecuencia de descarga igual o mayor del 50% con respecto a la frecuencia de base según el histograma de frecuencia y c) recuperación posterior de su frecuencia basal. La razón por la que se adoptó el criterio señalado en el inciso b, fue que en general las unidades registradas en el bulbo olfatorio descargaron con una frecuencia oscilante de tal manera que resultó difícil decidir si los cambios menores al 50% se debieron a la estimulación aplicada o a una modificación espontánea de la descarga unitaria. Las unidades fueron clasificadas de la siguiente forma: las que disminuyeron su frecuencia de descarga por efecto de la estimulación vagal, las que la aumentaron por el mismo efecto y las que no presentaron cambio.

Los experimentos de control se realizaron en 5 ratas adicionales estimulando el nervio ciático y registrando la actividad unitaria del bulbo olfatorio homolateral. Bajo las mismas condiciones se estudió la frecuencia de descarga unitaria

del área bulbar que respondió a la estimulación vagal. Se compararon los histogramas obtenidos al estimular cada uno de estos nervios.

2.3 PEROXIDASA DE RABANO: BULBO OLFATORIO

Con las técnicas de marcado del sitio de registro descritas en las dos secciones previas, se obtuvo evidencia de la capa histológica del bulbo olfatorio que es capaz de responder a la estimulación eléctrica del nervio vago cervical. Sin embargo, con el propósito de confirmar lo anterior y ahondar en el tipo de células que experimentan este efecto se realizó esta serie de experimentos.

La técnica histológica de la peroxidasa de rábano se practicó en 12 de las ratas utilizadas en los experimentos descritos en la sección precedente. En este caso la micropipeta utilizada como electrodo de registro, se llenó con una mezcla de las soluciones siguientes: peroxidasa de rábano, Sigma tipo VI, al 4% en solución amortiguadora de Tris pH= 8.6 y NaCl 2 M saturada con verde rápido.

Al terminar de registrar la actividad unitaria de un sitio en el cual se observó un claro efecto de la estimulación del

nervio vago sobre la frecuencia de descarga unitaria, se inyectó iontoforéticamente la enzima pasando 0.5 mA de corriente continua anódica durante 30 segundos. Inmediatamente después se registró nuevamente la descarga unitaria y si esta no se afectó por la administración de la enzima, se prosiguió con la técnica histológica. Este criterio se tomó para garantizar que la neurona finalmente marcada con dicha enzima, correspondiera al sitio de registro unitario efectuado previamente ya que esta célula pudo haberse lesionado o la punta del electrodo pudo haberse desplazado con respecto a su posición inicial.

Después de un lapso de supervivencia de 6 horas y tras la aplicación de una sobredosis de anestésico, el animal se perfundió intracardiácamente con 300 ml de solución lavadora formada por sacarosa al 20% (agente isosmótico) en amortiguador de fosfatos pH= 7.4, 1 ml de lidocaina al 1% y 20,000 U.I. de heparina; enseguida, con 300 ml de solución fijadora formada por 1.25% de glutaraldehído (estabilizador de la enzima) y 1% de paraformaldehído (fijador) en amortiguador de fosfatos pH= 7.4. Inmediatamente, se removió el cerebro y se dejó reposando durante la noche en sacarosa al 20% con amortiguador de fosfatos pH= 7.4 a 4 °C.

Al día siguiente, se montó el cerebro en un microtomo de congelación y se hicieron cortes histológicos de 60 µm de grosor. La peroxidasa contenida en los cortes se reveló con

tetrahidrocloruro de diaminobenzidina para la coloración café, y benzidina para la coloración azul. Para obtener un mejor contraste del área marcada con la enzima, los cortes procesados con el primer agente cromóforo se tiñeron con violeta de cresilo, mientras que los procesados con el segundo, con rojo neutro. Mayores detalles sobre esta técnica se encuentran descritos en otros trabajos (Nauta y cols., 1974; Barone y cols., 1981).

El análisis histológico de los cortes se realizó bajo microscopio en campo obscuro y brillante del cual se tomaron fotomicrografías. Se identificaron tanto el sitio de inyección del colorante (verde rápido), como la neurona o neuronas marcadas con peroxidasa de rábano. Se comparó la capa histológica en el atlas estereotáxico correspondiente (Pellegrino y cols., 1979).

2.4 ACTIVIDAD UNITARIA: DISTENSION GASTRICA - BULBO OLFATORIO

Cuando se hubo determinado que la estimulación eléctrica del nervio vago cervical es capaz de producir cambios en la actividad eléctrica del bulbo olfatorio y conociendo que este nervio conduce aferencias viscerales, se realizó esta nueva serie de experimentos con el objeto de probar si la distensión gástrica reproduce el efecto observado en la actividad unitaria del bulbo olfatorio por estimulación vagal.

Los experimentos se realizaron en 17 ratas machos: 10 Wistar de 342 a 485 g anestesiadas con hidrato de cloral 400 mg/Kg, y 7 Sprague-Dawley de 300 a 388 g anestesiadas con uretano 1.5 g/Kg. La razón por la que se utilizaron dos cepas distintas de animales fue simplemente la falta de disponibilidad del número necesario de ratas de una sola cepa. Por una razón similar a la anterior se usaron dos anestésicos distintos. Los animales se privaron de alimento durante las 17 horas previas al experimento

a fin de medir correctamente el volumen necesario para distender las paredes gástricas.

El método empleado en estos experimentos en lo concerniente a los siguientes aspectos: a) procedimiento quirúrgico de traqueostomía, cánula endotraqueal y trepanación a nivel del bulbo olfatorio; b) monitoreo de la temperatura rectal y frecuencia respiratoria y cardíaca; c) mantenimiento de la temperatura corporal; d) técnica estereotáxica; e) preparación de las micropipetas utilizadas como electrodos de registro; f) registro y grabado de la actividad eléctrica unitaria extracelular del bulbo olfatorio; g) inyección del verde rápido en el sitio de registro una vez concluido el experimento; h) rutina de perfusión intracardiaca con soluciones de lavado y fijado; i) análisis histológico; j) análisis por computadora de la señal registrada y, k) criterios para evaluar las unidades consideradas con efecto positivo, se describió en la sección 2.2. Las diferencias fundamentales con el método descrito en esa sección fueron las siguientes: 1) el sistema de estimulación, en este caso se distendió la pared del estómago mientras que en aquel se estimuló eléctricamente el nervio vago; 2) en este caso se estudió únicamente el área del bulbo olfatorio reconocida con efecto a la estimulación vagal, mientras que en aquel se exploraron todas las capas; y 3) por lo anterior, en este caso sólo se consideraron para fines estadísticos las unidades que presentaron efecto desechando las restantes.

Una vez realizada la traqueostomía y colocada la cánula endotraqueal, se implantó en el estómago por vía oral una sonda de Foley pediátrica; el globo de ésta se utilizó para hacer las distensiones con agua a temperatura ambiente controlando el flujo por medio de una bomba de infusión; este flujo se mantuvo constante en 1 ml/5 seg. Al inyectar volúmenes crecientes, de 1 a 10 ml registrando simultáneamente la actividad unitaria del bulbo olfatorio, se encontró que 5 ml fue un volumen promedio suficiente para modificar la frecuencia de descarga unitaria; por este motivo, todas las unidades registradas en esta serie de experimentos se probaron con este volumen. Cabe agregar que bajo estas condiciones no se observaron alteraciones de la frecuencia cardíaca o respiratoria.

Con el objeto de probar si las aferencias gástricas originadas por la distensión viajan a través del nervio vago, en 4 ratas de esta misma serie experimental se realizó además vagotomía cervical bilateral y se probó nuevamente cada unidad que previamente había modificado su frecuencia de descarga durante dicha distensión.

Llevado a cabo el análisis por computadora, las unidades que presentaron efecto se clasificaron usando el siguiente criterio de acuerdo con el histograma de frecuencia: a) las que mostraron un decremento en su frecuencia de descarga durante la distensión

de las paredes gástricas; b) las que presentaron un decremento e inmediatamente después de la distensión un incremento de su descarga por arriba del nivel basal; c) las que incrementaron su frecuencia tónicamente, es decir, durante toda la distensión y más allá de la misma y, d) las que incrementaron su frecuencia fásicamente, es decir, sólo durante la distensión o una parte de la misma.

En tres animales de esta serie de experimentos se aplicó además la técnica de la peroxidasa de rábano, a fin de corroborar histológicamente la capa de registro del bulbo olfatorio ya evidenciada por el verde rápido. Esta técnica se describió en la sección 2.3.

2.5 ACTIVIDAD UNITARIA : DISTENSION GASTRICA - HIPOTALAMO LATERAL

Con el propósito de comparar las modificaciones de la actividad unitaria del bulbo olfatorio con las del hipotálamo lateral por efecto de la distensión de las paredes gástricas, se llevó a cabo esta nueva serie de experimentos.

Los animales utilizados en esta serie experimental fueron 5 ratas Sprague-Dawley machos de 300 a 375 g, anestesiados con uretano a dosis de 1.5 g/Kg. El experimento consistió en registrar la actividad eléctrica unitaria extracelular del hipotálamo lateral y observar el efecto de la distensión gástrica con volúmenes crecientes, de 1 a 10 ml, sobre su frecuencia de descarga. Las coordenadas estereotáxicas para el hipotálamo lateral, donde se colocó la micropipeta utilizada como electrodo de registro, fueron las siguientes: posterior 1.5 mm de bregma, lateral 1.6 mm de la sutura sagital y altura 7 mm de la superficie pial.

El resto del procedimiento empleado en este grupo de experimentos se realizó en la misma forma al descrito en la sección precedente. La diferencia básica con el método descrito en la esa sección, fue el registro del hipotálamo lateral en lugar del bulbo olfatorio. Por otro lado, en los animales de estos experimentos no se efectuó vagotomía ni se aplicó la técnica de la peroxidasa de rábano. El sitio registrado se confirmó únicamente por la marca del verde rápido.

2.6 POTENCIALES PROVOCADOS: NERVIO VAGO--NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO, HIPOTALAMO LATERAL, BULBO OLFATORIO

Una vez que se demostró que tanto la distensión gástrica como la estimulación vagal modifican la actividad eléctrica del bulbo olfatorio, se proyectó este grupo de experimentos con el objeto de ahondar en el estudio de la vía responsable de conducir estas influencias.

Estos experimentos se realizaron en 12 ratas Wistar machos de 230 a 280 g, anestesiados con hidrato de cloral a dosis de 400 mg/Kg. El método descrito en la sección 2.1 fue el mismo que se utilizó en esta serie de experimentos, en lo que se refiere a los siguientes aspectos: a) procedimiento quirúrgico de traqueostomía, colocación de cánula endotraqueal e implantación del electrodo de estimulación para nervios periféricos; b) monitoreo de la temperatura rectal y la frecuencia cardíaca y respiratoria; c) mantenimiento de la temperatura corporal; d)

técnica estereotáxica; e) implantación de los electrodos de registro; f) sistema de estimulación eléctrica del nervio vago cervical; g) sistema de registro bipolar, amplificación y filtrado del potencial provocado; h) procedimiento de marcado del sitio ocupado por la punta del electrodo de registro; i) rutina de perfusión intracardiaca; j) análisis histológico de las zonas registradas. Las diferencias fundamentales de estos experimentos con respecto a los descritos en el apartado 2.1, fueron las siguientes: 1) en este caso se registró simultáneamente el potencial provocado por la estimulación vagal en tres estructuras homolaterales: el núcleo del tracto solitario, el hipotálamo lateral y el bulbo olfatorio; 2) estos electrodos de registro consistieron en electrodos bipolares concéntricos tipo Rhodes, de diámetro menor a los descritos en la sección 2.1, con una separación entre sus puntas de 1 mm; 3) las tres señales registradas se capturaron simultáneamente por canales diferentes en una microcomputadora conectada en línea, a través de un convertidor analógico digital; 4) los trazos de cada sitio de registro finalmente analizados, fueron el promedio de tres barridos.

Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las siguientes: para la porción rostral del núcleo del tracto solitario, posterior 11 mm de bregma, lateral 1.5 mm de la sutura sagital y altura 7.5 mm de la superficie pial en un trayecto vertical; para el hipotálamo lateral, posterior 1.5 mm de bregma,

lateral 1,5 mm de la sutura sagital y altura 7 mm de la superficie pial; para el bulbo olfatorio, anterior 8 mm de bregma, lateral 1.2 mm de la sutura sagital y altura 0.0 a 3.5 mm de la superficie pial.

La estimulación eléctrica del nervio vago se realizó aplicando pulsos cuadrados que tuvieron las siguientes características: 0.2 de mseg y 1 a 10 Volts. En estos experimentos no se midió la corriente aplicada aunque el voltaje utilizado fue equivalente al empleado en los experimentos descritos en la sección 2.1, en los cuales si se midió el amperaje necesario para obtener un potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal. En este sentido cabe agregar que la intensidad de la corriente o el voltaje necesarios para estimular las fibras del nervio vago, varían dependiendo del grado en que se haya desprovisto este nervio de su vaina de tejido conjuntivo durante la disección del mismo. Esta observación se realizó en experimentos preliminares.

En dos de los animales experimentales se realizó además vagotomía cervical por arriba del electrodo implantado y se repitió la estimulación. En otros tres de los mismos, se practicó lesión electrolítica del núcleo del tracto solitario con 5 mA de corriente directa durante 5 segundos; después de 5 minutos de dicha lesión, se repitió la estimulación del nervio vago cervical.

Cada trazo promedio del potencial almacenado en disco por la microcomputadora, se graficó en papel obteniéndose las latencias al pico. El análisis histológico permitió corroborar la posición correcta de los electrodos en cada una de las estructuras registradas, así como la extensión de la lesión electrofónica en el núcleo del tracto solitario.

2.7 POTENCIALES PROVOCADOS: NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO - BULBO OLFATORIO

Cuando se hubo determinado que la estimulación del nervio vago cervical produjo un potencial provocado tanto en el bulbo olfatorio como en el núcleo del tracto solitario, se proyectó esta maniobra experimental a fin de estudiar el potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del núcleo del tracto solitario.

El estudio se llevó a cabo en cinco ratas Wistar, mismas que se emplearon en los experimentos descritos en la sección precedente y durante la misma sesión experimental. Estos experimentos y los de la sección siguiente se describen en un apartado distinto sólo para fines de orden en la presentación. Por consiguiente, el método ya fue descrito en la sección previa. La diferencia básica estrió en la estimulación del núcleo del tracto solitario y el registro del bulbo olfatorio. Esta maniobra se realizó una vez que se registró, primeramente y en

cada animal, el potencial provocado en el núcleo del tracto solitario y el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago ipsilateral. Sin modificar la posición de los electrodos, el del núcleo del tracto solitario se usó como electrodo de estimulación. El resto del procedimiento, incluyendo el análisis de los resultados, se mencionó en la sección 2.6.

2.8 POTENCIALES PROVOCADOS: NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO - HIPOTALAMO LATERAL

Habiendo observado la presencia de un potencial provocado en el núcleo del tracto solitario y en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago cervical; además, un potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del núcleo del tracto solitario, se procedió a estudiar el potencial provocado en el hipotálamo lateral por la estimulación del núcleo del tracto solitario. El potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del hipotálamo, se determinó previamente por otros autores (Guevara-Aguilar y Aguilar-Baturoni, 1978).

La maniobra experimental se llevó a cabo en cinco de los animales utilizados en los experimentos descritos en la sección 2.6, durante la misma sesión experimental. Por lo tanto, el método referido en esa sección es el mismo que se empleó en este estudio. La diferencia consistió en estimular el núcleo del

tracto solitario, en lugar del nervio vago, y registrar el potencial provocado en el hipotálamo lateral. Esta maniobra se realizó en cada animal después de haber observado el potencial provocado en el núcleo del tracto solitario y en el hipotálamo lateral, por la estimulación del nervio vago ipsilateral. De esta manera, el electrodo del núcleo del tracto solitario, que primero se usó para registrar, se convirtió en un electrodo de estimulación. El resto del procedimiento, se mencionó en la sección 2.6.

2.9 ACTIVIDAD UNITARIA: DISTENSION GASTRICA-NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO

Habiendo obtenido los siguientes datos: a) modificación de la actividad unitaria del bulbo olfatorio por distensión gástrica así como un potencial provocado en la misma estructura por estimulación vagal y, b) un potencial provocado en el núcleo del tracto solitario por la misma estimulación, se procedió a estudiar la actividad unitaria de este núcleo durante distensión gástrica a fin de comparar sus respuestas con aquellas observadas en el bulbo olfatorio bajo el mismo efecto.

Esta serie de experimentos se realizó en 10 ratas Wistar machos de 230 a 260 g, anestesiados con hidrato de cloral a dosis de 400 mg/Kg. Estos animales se privaron de alimento durante las 17 horas previas al experimento. El método empleado se mencionó en la sección 2.4, en lo que se refiere a los siguientes aspectos: a) procedimiento quirúrgico de traqueostomía y colocación de cánula endotraqueal; b) implantación del globo

intragástrico por vía oral; c) monitoreo de temperatura rectal y mantenimiento de temperatura corporal; d) técnica de registro, grabado y análisis de la actividad eléctrica unitaria extracelular; e) técnica de distensión gástrica con flujo constante de 1 ml/5 seg; f) criterios para decidir efecto positivo sobre la actividad unitaria; g) rutina de perfusión intracardiaca y, h) análisis histológico de los cerebros.

Las micropipetas de vidrio, empleadas como electrodos de registro, se llenaron con una solución formada por 200 mg de azul de pontamina disueltos en 10 ml de acetato de sodio 0.5 M; el diámetro de su punta fue de 3 a 5 μm y su resistencia en solución salina de 8 a 10 megohms. Al concluir cada experimento, el marcado del sitio de registro se efectuó inyectando el colorante por medio de corriente directa negativa 7 μA durante 10 minutos.

Las coordenadas estereotáxicas para registrar la porción rostral del núcleo del tracto solitario fueron las siguientes: posterior 11 mm de bregma, lateral 1.5 mm de la sutura sagital y altura 7.5 mm desde la superficie pial en un trayecto vertical.

Con ayuda del micromanipulador hidráulico se exploró la porción rostral del núcleo del tracto solitario en sentido vertical. Con la actividad unitaria registrada y capturada en la microcomputadora se construyeron histogramas de frecuencia. Para fines estadísticos sólo se consideraron las unidades que modificaron su frecuencia de descarga por efecto de la

distensión gástrica; las restantes fueron desechadas. Los histogramas obtenidos en estos experimentos se compararon con aquellos obtenidos de la actividad unitaria del bulbo olfatorio al distender las paredes gástricas.

2.10 IONTOFORESIS: ACETILCOLINA - BULBO OLFATORIO

Dado el antecedente de la presencia de elementos colinérgicos en el bulbo olfatorio (Godfrey y cols., 1980), así como la evidencia de que las aferencias vagales modulan la actividad eléctrica del bulbo olfatorio, se realizó esta serie de experimentos a fin de probar si la actividad unitaria del bulbo olfatorio se modifica por la administración microiontoforética de acetilcolina.

Estos experimentos se llevaron a cabo en cinco ratas Wistar machos de 240 a 280 g, anestesiados con hidrato de cloral a dosis de 400 mg/Kg.

En la sección 2.2 se describió parte del método empleado en estos experimentos: a) monitoreo de la frecuencia cardíaca y la temperatura rectal; b) mantenimiento de la temperatura corporal; c) procedimiento quirúrgico para hornadar el cráneo a nivel del bulbo olfatorio; d) método de registro, amplificación, filtrado y grabación de la actividad eléctrica unitaria extracelular; e)

análisis por computadora de la actividad bulbar olfatoria; f) criterios para evaluar el efecto sobre la actividad unitaria; g) rutina de perfusión intracardiaca al concluir cada experimento; y, h) análisis histológico de los cortes del bulbo olfatorio.

En la administración electroforética de acetilcolina se utilizó una micropipeta de vidrio formada por tres tubos capilares; los diámetros de sus puntas fueron de 3 a 5 μm . Dos de estos tres capilares se llenaron con NaCl 2 M, el tercero con acetilcolina 2 M. Sus resistencias medidas en solución salina fueron de 5 a 10 megahoms. La aplicación electroforética se realizó mediante corriente directa usando un sistema de microiontoforesis (Neurophore BH-2, Medical System Corp.). Una de las dos micropipetas cargadas con NaCl 2 M se utilizó como electrodo de registro de la actividad unitaria, mientras que la otra se usó para enviar corrientes de retención de la droga de 5 nA. La aplicación microiontoforética de la acetilcolina se efectuó con corrientes de 10, 20 y 30 nA durante lapsos de 30 segundos; en estos lapsos se desconectó automáticamente la corriente de retención. Cada prueba se realizó bajo registro continuo de la actividad unitaria. Las coordenadas estereotáxicas empleadas en registro del bulbo olfatorio fueron: anterior 7.5 a 8.0 mm de bregma, lateral 0.5 a 1.2 mm de la sutura sagital y altura 0.0 a 3.3 mm de la superficie pial. La micropipeta triple fue manejada con un micromanipulador

hidráulico, a control remoto, en un trayecto vertical.

Al terminar cada experimento la solución de la micropipeta de registro se substituyó por HCl 1 M y se pasó corriente directa positiva 10 μ A durante 3 minutos; esto permitió marcar el sitio de registro. La substitución de las solución de la micropipeta se realizó mientras esta se encontraba sujeta al micromanipulador a fin de evitar desplazamientos de la misma.

Los histogramas de las unidades que respondieron a la administración microiontoforética de acetilcolina se compararon con aquellos obtenidos de las mismas unidades al distender las paredes gástricas. Igualmente, se comparó la ubicación en el bulbo olfatorio de las marcas del HCl de estos experimentos, con las de verde rápido de los experimentos de distensión gástrica descritos en la sección 2.4.

3. RESULTADOS

3.1 POTENCIALES PROVOCADOS : NERVIO VAGO - BULBO OLFATORIO

En esta sección se presentan los resultados obtenidos al estimular eléctricamente el nervio vago cervical y registrar el potencial provocado en el bulbo olfatorio homolateral.

Haciendo una exploración de todas las capas histológicas del bulbo olfatorio en sentido vertical, se obtuvo un potencial provocado en una de ellas según se observa en la figura 8. Nótese las capas concéntricas del bulbo olfatorio en el esquema que muestra esta figura. En este esquema se señalan dos sitios registrados, para fines de comparación, cuyos trazos aparecen en la misma figura. Cuando la punta del electrodo de registro se encontró a una profundidad de 2,900 μm de la superficie pial, se tomó el primer trazo que se muestra; en este trazo sólo se observa el artefacto de estimulación y no aparece potencial

provocado. Sin embargo, al descender otros 100 μm se registró un potencial provocado cuya magnitud creció al aumentar la intensidad de estimulación; lo anterior se observa en el segundo trazo. Esta profundidad correspondió a la capa periglomerular como veremos adelante. También se observó que la magnitud de este potencial aumentó al acercarse a esta capa y disminuyó al alejarse de ella, a una intensidad de estimulación dada. En cada experimento una vez encontrado el sitio donde se registró la mayor magnitud del potencial, se invirtió la polaridad de estimulación cerciorándose de que no se modificaran su morfología y sus latencias.

El potencial registrado consta de dos componentes: el primero, que se observa como una deflexión negativa en la figura 8, tiene una latencia de 15 mseg en promedio; el segundo, de magnitud pequeña y poco claro, tiene una latencia de 40 mseg. En la misma figura, se observa que al aumentar la intensidad de estimulación el potencial provocado aumentó su magnitud básicamente en el primer componente.

Dada la estructura concéntrica del bulbo olfatorio, al descender el electrodo de registro es posible explorar dos veces la misma capa; sin embargo, en estos experimentos fue más fácil registrar el potencial provocado en la profundidad.

En el análisis histológico la marca de la punta del

electrodo confirmó que el potencial provocado se registró en la capa periglomerular del bulbo olfatorio. También demostró la marca en otras capas donde no se registró dicho potencial provocado.

La vagotomía cervical por arriba del sitio de estimulación anuló el potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago. En los experimentos de control se observó que la estimulación del nervio ciático no produjo potencial provocado en la capa periglomerular.

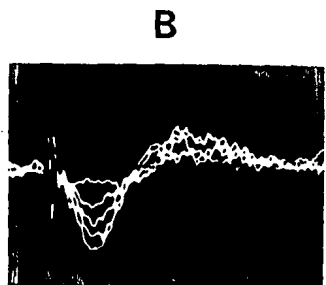
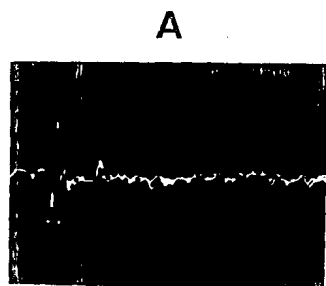
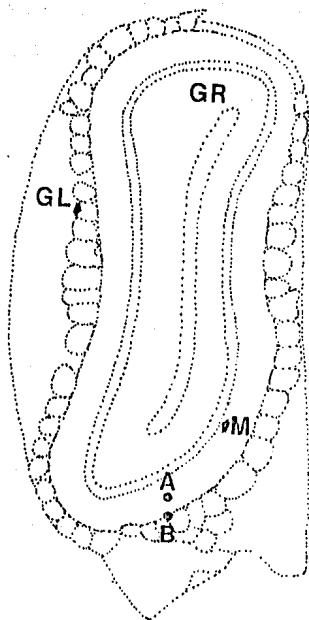


Fig. 8 Potenciales provocados en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago. Izquierda: esquema del bulbo olfatorio; A, uno de los sitios donde no se registró potencial provocado; B, capa periglomerular donde se registró potencial provocado. Derecha: A, superposición de tres barridos en los que no se observa respuesta; B, incremento en el componente negativo del potencial provocado por un aumento en la intensidad de estimulación. GL: capa glomerular; GR: capa granulosa; M: capa mitral. Polaridad del trazo: positivo hacia arriba. Calibración: 10 msec y 50 μ V.

3.2 ACTIVIDAD UNITARIA: NERVI O VAGO-BULBO OLFATORIO

En este apartado se describen los resultados obtenidos al registrar la actividad eléctrica unitaria extracelular del bulbo olfatorio y estimular el nervio vago ipsilateral.

Como se mencionó en el método el estímulo eléctrico se aplicó en dos modalidades, trenes y pulsos únicos, de tal manera que se abordarán los efectos correspondientes por separado. Cabe recordar, que estos resultados están apoyados sobre un análisis de la frecuencia de descarga unitaria.

La prueba de trenes de estimulación que se aplicó a cada una de las unidades registradas al explorar verticalmente todas las capas del bulbo olfatorio, fue con trenes de frecuencias diferentes. De esta manera, los efectos obtenidos estuvieron en función de la unidad registrada y la frecuencia de estimulación aplicada. Pudieron distinguirse tres tipos de patrones de descarga unitaria inmediatamente después de la estimulación: las unidades que disminuyeron su frecuencia de descarga, como

respuesta típica; las que la aumentaron y las que no modificaron su frecuencia. Sin embargo, existieron unidades que fueron capaces de mostrar los tres comportamientos dependiendo de la frecuencia de estimulación utilizada. En este respecto, en la figura 9 se ilustra el caso de la misma unidad probada con frecuencias diferentes; nótese en A y C el cambio de frecuencia de las espigas inmediatamente después de la estimulación, así como la recuperación posterior de su descarga basal; tales efectos son corroborados por el histograma periestimulo respectivo. En el trazo B de la misma figura no se observa efecto, conforme al criterio señalado en el método.

La tabla 1 es un resumen de los efectos producidos sobre la frecuencia de descarga de 125 unidades registradas en las distintas capas del bulbo olfatorio, por la estimulación vagal con trenes de frecuencias diferentes. Sesenta y tres de las 125 unidades probadas modificaron su frecuencia por la estimulación, es decir, aproximadamente la mitad. Nótese que 37 de las 63 unidades que presentaron efecto (58.7%) disminuyeron su frecuencia de descarga después de la estimulación, ésta fue la respuesta más común. También se observa que 26 de las 63 unidades (41.2%) aumentaron su frecuencia de disparo. En 8 de las 63 unidades (12.6%) se observaron efectos distintos en la misma unidad, dependiendo de la frecuencia de estimulación aplicada; algunas de estas unidades disminuyeron su frecuencia de

descarga con bajas frecuencias de estimulación pero la aumentaron con altas frecuencias; o bien, otras como en el caso de la figura 9, elevaron su frecuencia de disparo con bajas frecuencias de estimulación pero la disminuyeron con altas frecuencias. También se registraron unidades que no presentaron efecto a una frecuencia de estimulación dada, pero que si lo presentaron al estimular con otra frecuencia.

Las unidades que previamente respondieron a los trenes de estimulación vagal, se probaron también con pulsos únicos. Los resultados, al igual que en la estimulación con trenes, fueron de disminución, aumento y no cambio de la frecuencia de disparo después de la estimulación. En la figura 10 se observa la respuesta de tres unidades distintas del bulbo olfatorio a la estimulación vagal con pulsos únicos; cada trazo que se muestra es la superposición de tres barridos; el histograma periestimulo correspondiente confirma la respuesta observada en cada trazo. Se aprecia que el comportamiento de estas tres unidades después de la estimulación es de aumento, disminución y no cambio en su frecuencia de disparo respectivamente de A a C. Nótese que el tiempo en el que existe una mayor (A) o menor (B) probabilidad de que la neurona dispare, es de 15 mseg en promedio.

En la figura 11 se aprecia una correlación entre el potencial provocado y la descarga unitaria del bulbo olfatorio al estimular el nervio vago con pulsos únicos. Obsérvese que el

componente negativo del potencial provocado es el que está más relacionado en el tiempo con la supresión de la descarga unitaria y que este lapso es de 15 mseg en promedio.

El análisis histológico de los bulbos olfatorios marcados con verde rápido reveló que los sitios donde se obtuvieron respuestas a la estimulación vagal, correspondieron a la capa periglomerular. Asimismo, por la marca que se hizo en los sitios donde no se obtuvo modificación de la frecuencia de disparo, se demostró que no todas las capas del bulbo olfatorio responden a ésta estimulación.

La vagotomía cervical por arriba del sitio de estimulación, suprimió los efectos observados en la descarga unitaria del bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago ipsilateral. En los experimentos de control se encontró que la frecuencia de disparo de las unidades registradas en la misma capa que respondió a la estimulación vagal, no se afectó por la estimulación del nervio ciático ipsilateral.

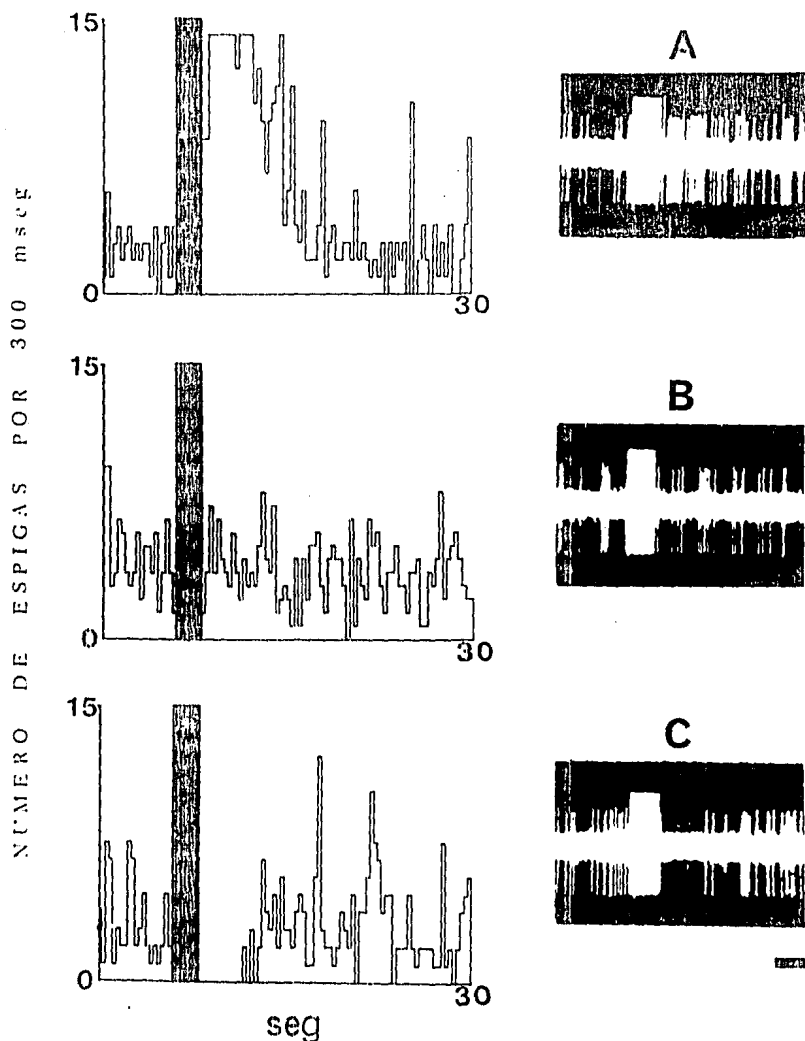


Fig. 9 Efectos de la estimulación del nervio vago con frecuencias diferentes sobre la frecuencia de descarga de la misma unidad en el bulbo olfatorio. Izquierda de arriba abajo: histogramas periestimulo obtenidos al estimular con frecuencias de 40, 60 y 80 Hz respectivamente. La columna negra representa el tren de estimulación de 2 segundos aplicado al nervio vago. A, B y C, muestran los trazos osciloscópicos originales. Nótese el efecto opuesto que se obtiene al estimular con bajas (A) y altas (C) frecuencias. Calibración: 2 seg y 50 μ V.

T A B L A 1

RESUMEN DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR LA ESTIMULACION DEL NERVI
 VAGO CON DIFERENTES FRECUENCIAS SOBRE LA ACTIVIDAD UNITARIA DEL
 BULBO OLFATORIO

FRECUENCIA DE ESTIMULACION (HZ)	FRECUENCIA DE LA DESCARGA UNITARIA		
	DISMINUCION	AUMENTO	NO CAMBIO
10	1	4	3
20	12	5	3
30	9	5	13
40	6	2	26
50	2		7
60	5	8	4
70			3
80	2	2	3
	37 (63) 38.7%	26 (63) 41.2%	62 (125) 49.6%

Los números indican la cantidad de unidades que mostraron un efecto particular a la frecuencia de estimulación dada. Ocho de las 63 unidades (12.6%) que aumentaron o disminuyeron su frecuencia de descarga, presentaron también el efecto opuesto o de no cambio al variar la frecuencia de estimulación.

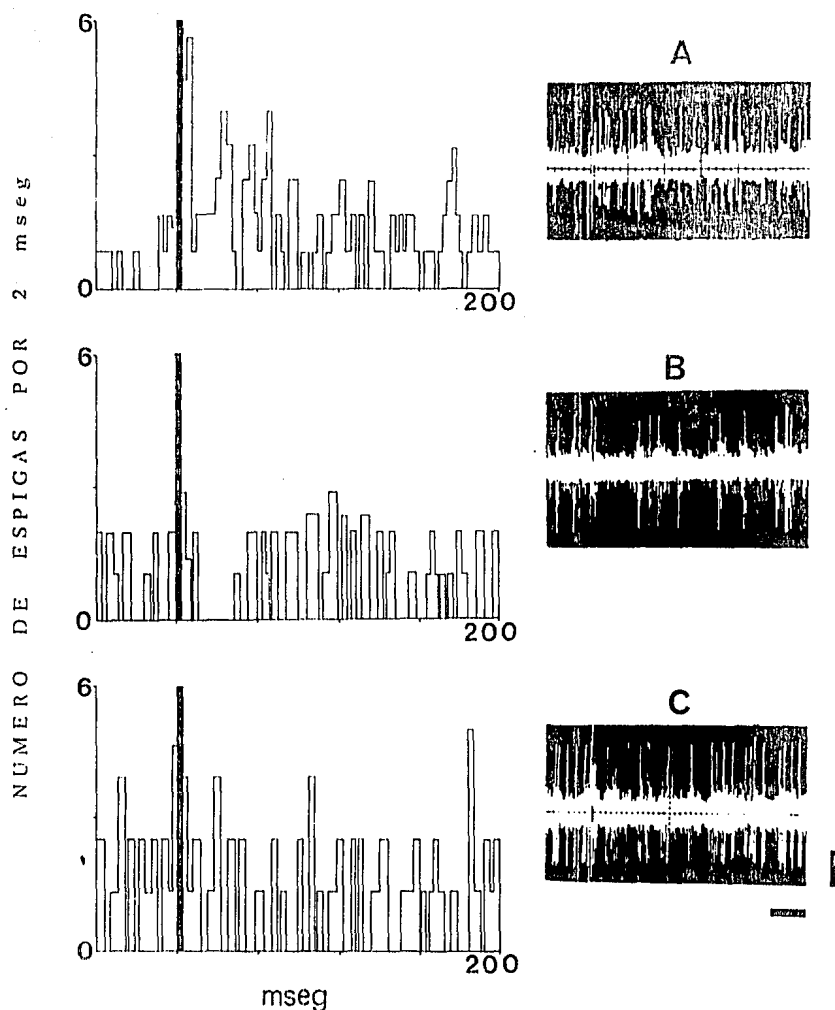


Fig. 10 Respuesta de tres unidades diferentes del bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago con pulsos únicos. A la izquierda se muestran los histogramas periestimulo correspondientes a cada trazo osciloscópico de la derecha. Superposición de diez barridos. La columna negra representa el pulso de estimulación. Los efectos que se observan son: A, un aumento en el número de espigas después de la estimulación; B, una disminución, y C, no efecto. Calibración: 20 mseg y 50 μ V.

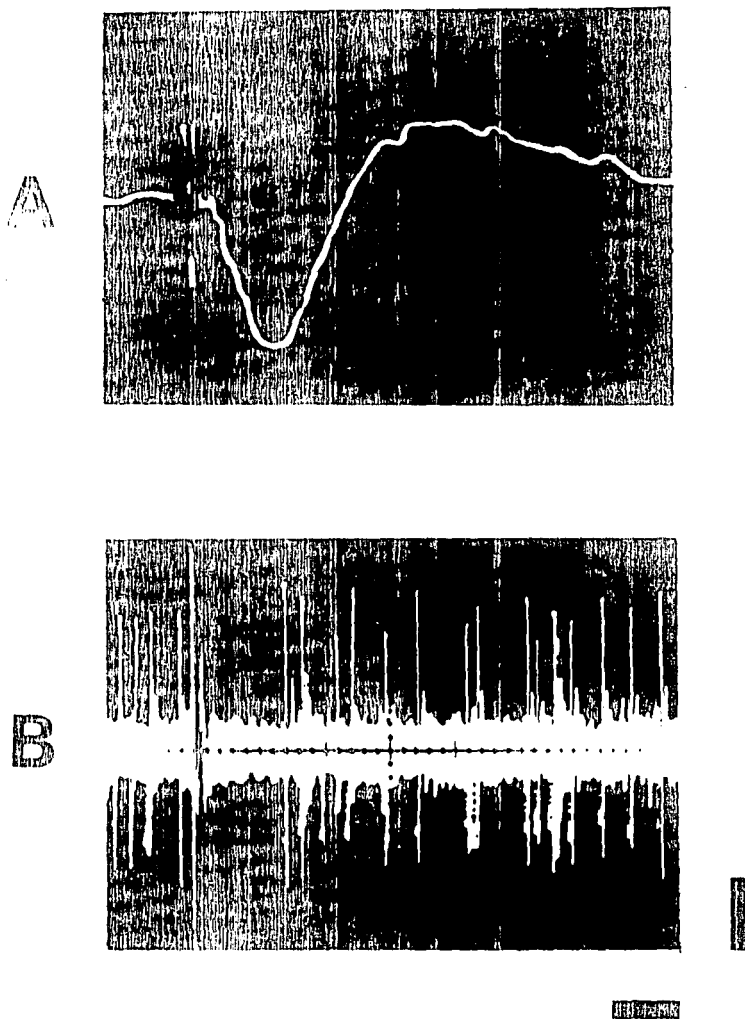


Fig. 11 Correlación entre el potencial provocado (A) y la descarga unitaria (B) del bulbo olfatorio al estimular el nervio vago con pulsos únicos. B, superposición de diez barridos. Calibración: A, 10 mseg y 50 μ V; B, 20 mseg y 50 μ V.

3.3 PEROXIDASA DE RABANO: BULBO OLFATORIO

Los resultados que se describen en este apartado corresponden a los experimentos en los que una vez observado el efecto de la estimulación vagal por trenes y pulsos únicos sobre la descarga neuronal unitaria del bulbo olfatorio, se inyectó iontoforéticamente la peroxidasa de rábano. Esta técnica histológica permitió corroborar la capa de registro, ya evidenciada por el verde rápido, que respondió a dicha estimulación.

En la figura 12 se observa una neurona marcada con peroxidasa de rábano en el sitio donde se registró disminución de la frecuencia de descarga unitaria por estimulación vagal con trenes y pulsos únicos. En A se muestra un corte histológico del bulbo olfatorio homolateral al nervio vago estimulado, donde se aprecia la marca del verde rápido en el sitio donde se inyectó la enzima; nótese que este sitio corresponde a la capa periglomerular; esta capa histológica es la misma que se registró

en la profundidad, dada la estructura concéntrica del bulbo olfatorio. En B se muestra una fotomicrografía a mayor aumento del corte de A; la flecha señala una neurona que se marcó con la enzima. Esta neurona corresponde a una célula periglomerular; sin embargo, también existe la posibilidad de que se trate de una célula empenachada desplazada. De cualquier forma, esta zona histológica corresponde a la capa periglomerular del bulbo olfatorio. Por otra parte, aunque en el corte que observamos en A y B no aparece ninguna otra neurona francamente marcada por la enzima, existe la posibilidad de que no precisamente la neurona que observamos sea la responsable de la actividad unitaria registrada. No obstante, dada la cercanía de la punta de la micropipeta utilizada como electrodo de registro de esta célula, es atribuible a esta última la actividad unitaria extracelular registrada. En C se muestra el registro obtenido en el sitio donde se inyectó la enzima y el colorante que aparece en A y B. Obsérvese que la aplicación de pulsos únicos de estimulación al nervio vago suprime la descarga unitaria inmediatamente después de cada pulso y que tal efecto dura 15 msec en promedio.

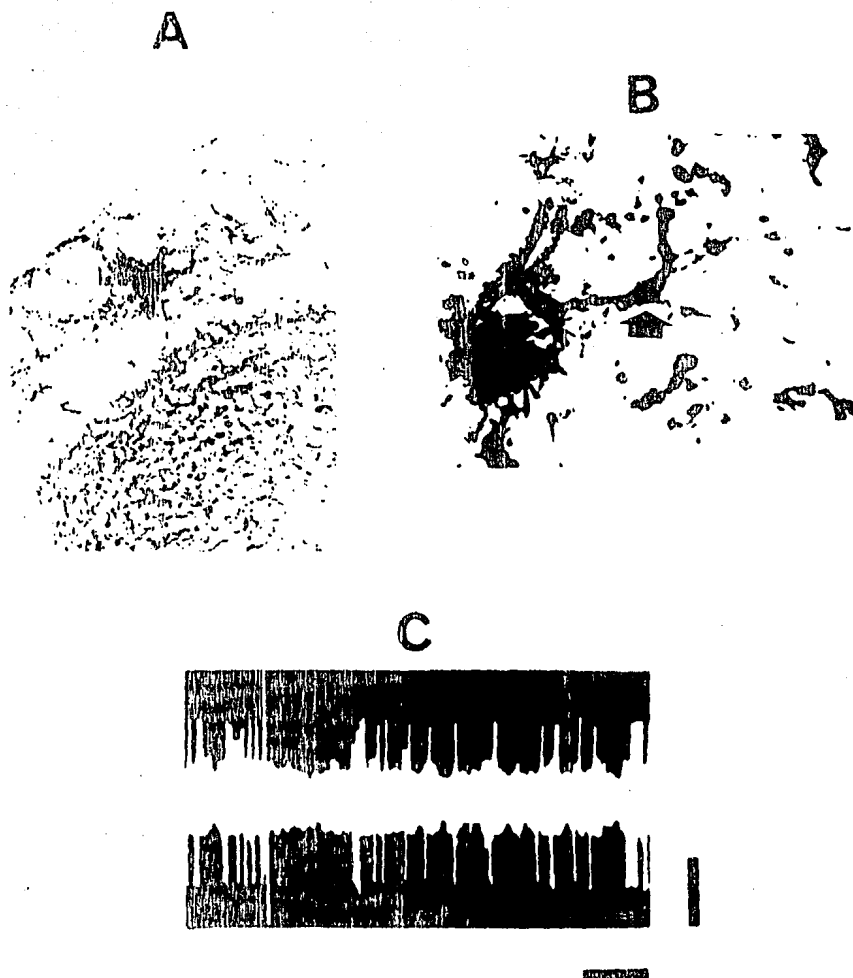


Fig. 12 Neurona marcada con peroxidasa de rábano en el sitio donde se registró disminución de la actividad neuronal unitaria por la estimulación del nervio vago. A: sitio de inyección de la enzima en el bulbo olfatorio. B: ampliación a 40x, la flecha señala la neurona marcada. C: trazo osciloscópico de la respuesta neuronal, superposición de diez barridos. Calibración: 20 msec y 50 μ V.

3.4 ACTIVIDAD UNITARIA: DISTENSION-GASTRICA BULBO OLFATORIO

Los resultados que aquí se describen corresponden a los experimentos en los que se distendieron las paredes del estómago mediante un globo intragástrico, durante el registro de la actividad unitaria del Bulbo olfatorio a nivel de la capa periglomerular.

Los criterios utilizados para decidir si la actividad unitaria experimentó efecto durante la maniobra experimental fueron los siguientes: a) repetición del mismo patrón de descarga unitaria al realizar la distensión gástrica, al menos en tres ocasiones consecutivas; b) modificación de la frecuencia de descarga en una proporción igual o mayor al 50% con respecto a la descarga basal; y c) recuperación de su frecuencia de base después de cada prueba. Este criterio, aunque ya se señaló en el método, se ha repetido dada su importancia. De esta manera, en las 37 unidades probadas pudieron distinguirse cuatro patrones de

respuesta conforme al siguiente criterio: 1) decremento-incremento, las que disminuyeron su frecuencia de descarga durante la distensión gástrica pero que la aumentaron en el momento de suspenderla (véase la figura 13 A); 2) decremento, las que únicamente la disminuyeron durante la prueba (figura 13 B); 3) incremento tónico, las que la aumentaron durante la prueba y posterior a ella durante un tiempo prolongado (figura 14 A); 4) incremento fásico, las que sólo la aumentaron durante la prueba o un tiempo menor (figura 14 B). En estos casos la distensión gástrica se realizó con 5 ml a un flujo de 1 ml/5 seg.

La tabla 2 resume los efectos producidos por la distensión gástrica sobre la descarga neuronal unitaria del bulbo olfatorio. Nótese en ella que la respuesta más común es la disminución de la frecuencia de disparo. Cabe señalar que sólo se consideraron las unidades que presentaron efecto conforme a los criterios adoptados; las restantes fueron desechadas.

La figura 15 muestra el efecto de la distensión gástrica con diferentes volúmenes sobre la frecuencia de descarga de una unidad del bulbo olfatorio. Las líneas punteadas señalan las fases de llenado gástrico con un flujo constante de 1 ml/5 seg, distensión sostenida durante 30 segundos y vaciamiento gástrico durante 15 segundos. Su respuesta corresponde al comportamiento típicamente observado durante esta maniobra experimental. El periodo 2 que se señala en la mayoría de los histogramas de

frecuencia que componen esta figura, corresponde al tiempo que va desde el instante en que se inicia el llenado del globo intragástrico hasta que la frecuencia de descarga es igual a cero. Obsérvese que el umbral aparece en 3 ml y que este período es cada vez menor a medida que se eleva el volumen de distensión. También se observa efecto en la pendiente de recuperación a medida que crece el volumen de prueba. Sin embargo, debe advertirse que a volúmenes mayores, 9 y 10 ml, desaparece el período 2 y que la respuesta se invierte; es decir, la frecuencia crece en lugar de disminuir durante la prueba.

El análisis histológico de los bulbo olfatorios registrados demostró que la zona de respuesta a la distensión gástrica fue la capa periglomerular. La técnica de marcado con peroxidasa de rábano corroboró el sitio señalado por el verde rápido.

La vagotomía bilateral a nivel cervical permitió hacer la siguiente observación: al repetir la prueba de distensión gástrica en las unidades que previamente presentaron efectos, estas unidades no volvieron a responder, conforme al criterio señalado para evaluar el efecto positivo (modificación de la frecuencia de descarga por lo menos en un 50% con respecto al nivel de base). Lo anterior significa que una unidad pudo presentar una modificación inferior al 50% en su frecuencia de descarga y no ser considerado como efecto. Esta incertidumbre obedece al hecho de que la descarga unitaria del bulbo olfatorio

normalmente es cíclica; es decir, con frecuencias crecientes y decrecientes en forma espontánea. Esta es la razón por la que se contempló la necesidad de adoptar el criterio de modificación del 50% en la frecuencia al estudiar los efectos en la descarga unitaria del bulbo olfatorio. Posteriormente, por uniformidad, se manejó el mismo criterio para otras estructuras donde también se estudió la actividad unitaria. Resumiendo lo anterior, se puede concluir que la sección vagal bilateral a nivel cervical anula o al menos reduce la respuesta de la actividad unitaria del bulbo olfatorio a la distensión gástrica. Desde este punto de vista, no es posible descartar completamente una vía distinta a la vagal que también puede estar participando en este fenómeno.

Finalmente cabe hacer notar como parte de estos resultados, que los volúmenes empleados para efectuar la distensión de las paredes gástricas no alteraron la frecuencia respiratoria o cardíaca.

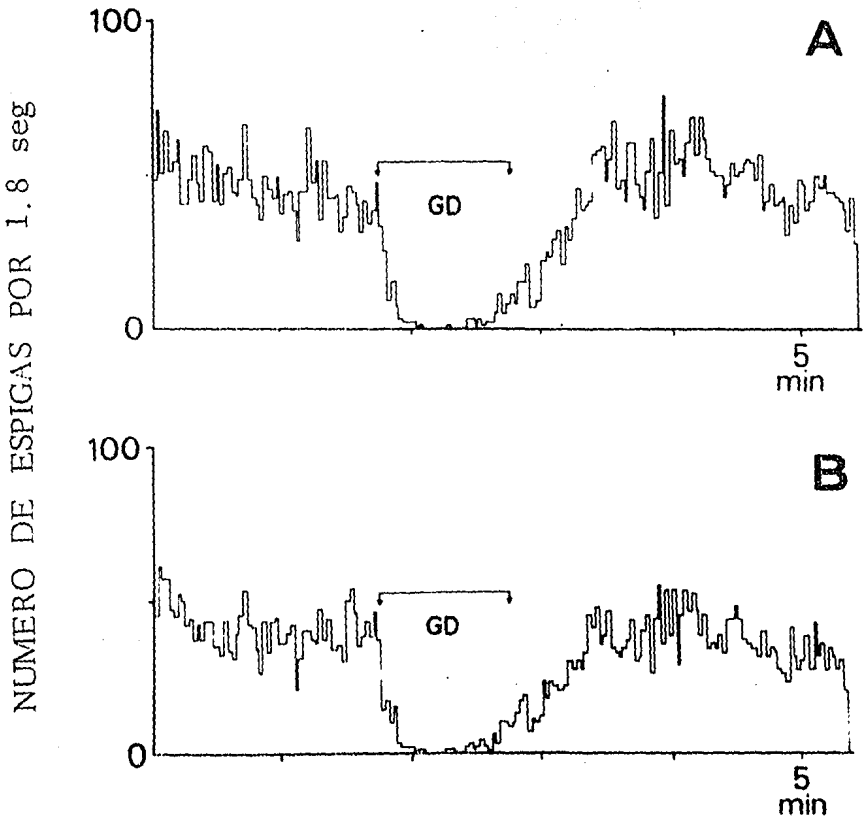


Fig. 13 Histogramas de frecuencia de la actividad unitaria de dos neuronas del bulbo olfatorio que responden típicamente a la distensión gástrica con 5 ml a un flujo de 1 ml/5 seg. El intervalo entre las dos flechas corresponde a la duración de la distensión. A: disminución de la frecuencia de descarga durante la distensión, seguida de incremento después del vaciamiento gástrico. B: sólo decremento de la frecuencia durante la distensión. GD: distensión gástrica.

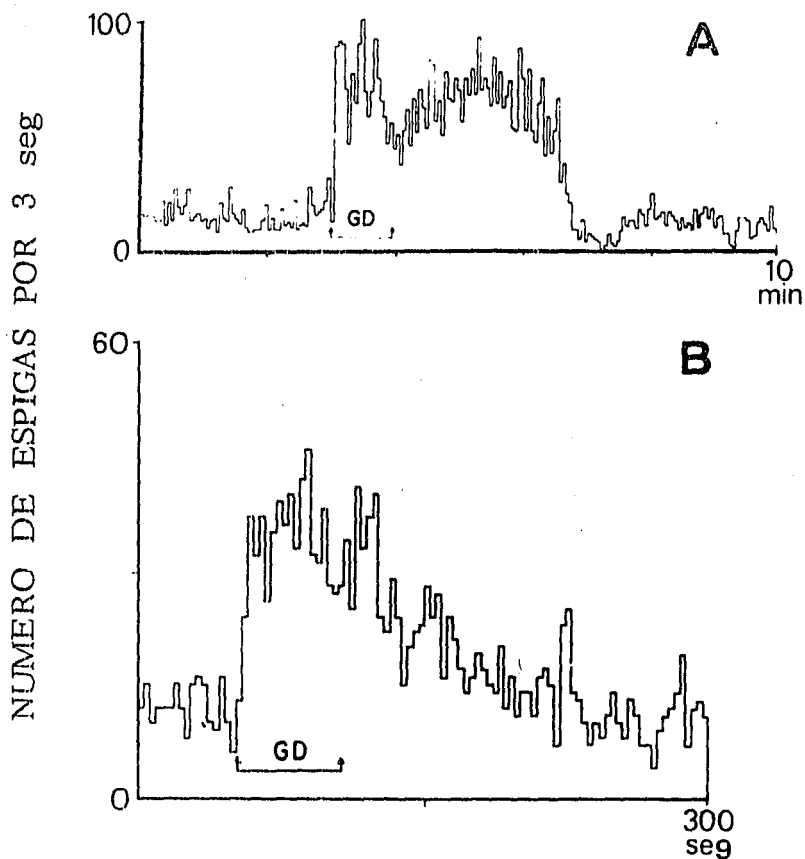


Fig. 14 Histogramas de frecuencia de la actividad unitaria de dos neuronas del bulbo olfatorio que responden a la distensión gástrica con 5 ml a un flujo de 1 ml/5 seg. El intervalo entre las dos flechas corresponde a la duración de la distensión. A: incremento tónico de la frecuencia de descarga. B: incremento fásico. GD: distensión gástrica.

T. A B L A 2

RESUMEN DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR LA DISTENSION GASTRICA
CON 5 ml SOBRE LA FRECUENCIA DE DESCARGA NEURONAL UNITARIA DEL
BULBO OLFATORIO

E F E C T O S	U N I D A D E S
DECREMENTO	12 (32.4%)
DECREMENTO-INCREMENTO	8 (21.6%)
INCREMENTO TONICO	9 (24.3%)
INCREMENTO FASICO	8 (21.6%)

El total de estas unidades se registró en la capa periglomerular del bulbo olfatorio. Sólo se consideraron las unidades que mostraron efecto, las restantes fueron desechadas. En todos los casos la infusión intragástrica se realizó con un flujo de 1 ml/5 seg.

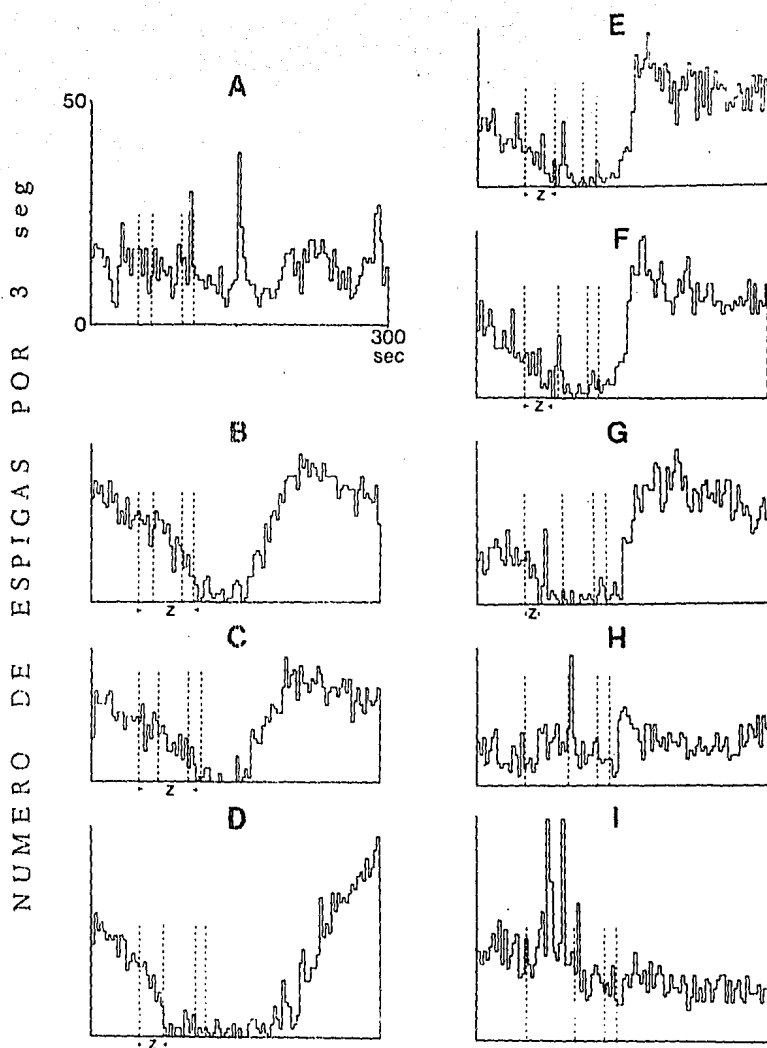


Fig. 15 Efectos de la infusión intragástrica de diferentes volúmenes, 2 a 10 ml de la A a la I a un flujo de 1 ml/5 seg, sobre la descarga de una unidad del bulbo olfatorio. Las líneas punteadas limitan los lapsos de llenado, distensión sostenida y vaciamiento gástricos. El período Z corresponde al tiempo que va desde el inicio del llenado hasta que la frecuencia de descarga llega a cero.

3.5 ACTIVIDAD UNITARIA: DISTENSION GÁSTRICA - HIPOTÁLAMO LATERAL

En esta sección se describen los resultados obtenidos al distender las paredes gástricas y estudiar las modificaciones de la actividad eléctrica unitaria extracelular del hipotálamo lateral.

Al explorar el hipotálamo lateral en sentido vertical, se encontró que 11 de las unidades probadas con la distensión gástrica de 5 ml y flujo de 1 ml/5 seg presentaron efecto; las unidades que no respondieron fueron desechadas. De esta manera, las unidades que respondieron se clasificaron en dos grupos: las que disminuyeron su frecuencia de descarga durante la prueba y las que la aumentaron. Siete de las 11 unidades que mostraron efecto, presentaron la primera respuesta y 4 la segunda. Nólese que en este caso al igual que para el bulbo olfatorio, la respuesta más común es de disminución de la frecuencia de descarga unitaria durante la distensión gástrica.

La prueba de distensión de las paredes gástricas con distintos volúmenes en una unidad del hipotálamo lateral con respuesta tónica, permitió hacer mediciones del período 2 mencionado en la sección precedente. En la figura 16 se muestra una comparación del período 2 medido en dos unidades, una del hipotálamo lateral y la otra del bulbo olfatorio. Nótese que el volumen mínimo para obtener respuesta en la unidad hipotalámica es de 2 ml, mientras que para la unidad del bulbo olfatorio es de 3 ml. Ambos períodos decrecen al aumentar el volumen de prueba; sin embargo, se puede notar que en 5 ml las dos unidades presentan una disminución brusca de dicho período.

El análisis histológico de los cerebros confirmó la posición correcta de la punta de electrodo de registro ya que se observó la marca de verde rápido en el hipotálamo lateral.

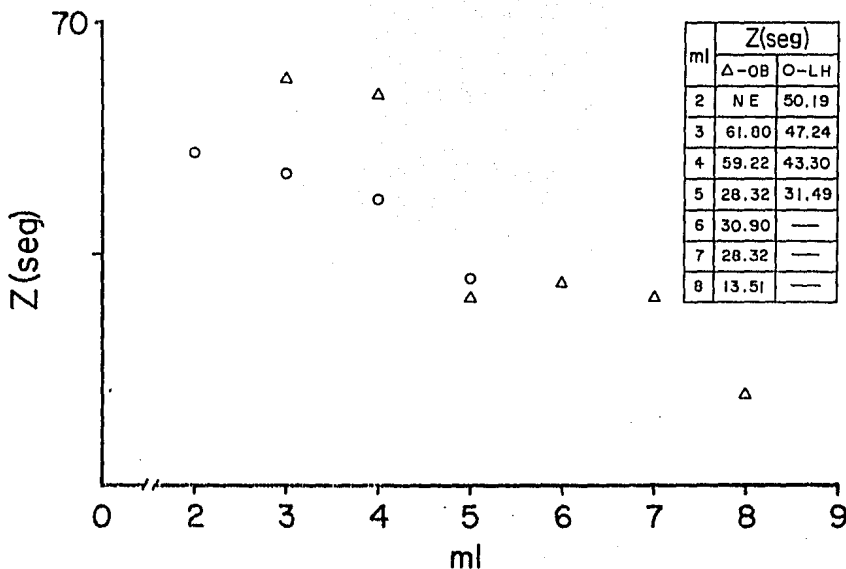


Fig. 16 Comparación del periodo Z obtenido con la infusión intragástrica de diferentes volúmenes en una unidad del bulbo olfatorio (triángulos) y otra del hipotálamo lateral (círculos). OB: bulbo olfatorio. LH: hipotálamo lateral.

3.6 POTENCIALES PROVOCADOS: NERVIO VAGO-NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO, HIPOTALAMO LATERAL, BULBO OLFATORIO

En esta parte se describen los resultados obtenidos al estimular el nervio vago cervical y registrar en forma simultánea el potencial provocado en tres estructuras homolaterales: el bulbo olfatorio, el hipotálamo lateral y el núcleo del tracto solitario.

En la figura 17 se observan tres trazos que de arriba abajo corresponden al bulbo olfatorio, el hipotálamo lateral y el núcleo del tracto solitario; cada trazo es el promedio de tres barridos, obtenido mediante una microcomputadora. Dado que estos trazos fueron obtenidos simultáneamente, el mismo estímulo aplicado al nervio vago provocó los distintos potenciales que se observan en cada uno de ellos. Además, este arreglo permitió estudiar la correlación temporal del potencial provocado en cada una de las estructuras mencionadas. El trazo del bulbo olfatorio

se obtuvo al colocar la punta del electrodo de registro en su superficie, a nivel de la capa periglomerular. En él, se observa claramente el potencial lento que se describió en la sección 3.1; éste tiene una latencia al pico de 14 a 16 mseg. Sin embargo, pudo observarse un potencial temprano que apareció en el sitio del trazo que señala la flecha; este potencial no se observó en los experimentos descritos en la sección 3.1. Al descender el electrodo de registro a nivel de la capa granulosa apareció claramente este potencial temprano, como se aprecia en la figura 18 trazo superior; nótese que a esta profundidad no se observó el potencial lento. Volviendo a la figura 17 en el trazo medio, correspondiente al hipotálamo lateral, se aprecia un potencial provocado señalado por la flecha cuya latencia fue de 3 a 5 mseg. En el trazo del núcleo del tracto solitario se observa un potencial provocado en el que pueden distinguirse claramente por lo menos dos componentes; el primero con 2 a 3 mseg y el segundo con 5 a 7 mseg de latencia al pico.

En la figura 18 se aprecian nuevamente los potenciales de las mismas estructuras en el orden mencionado; en este caso, como se señaló antes, el registro del bulbo olfatorio se efectuó a nivel de la capa granulosa además de que se aumentó la intensidad de estimulación. En el trazo del bulbo olfatorio se observa que el potencial temprano o de la profundidad aparece inmediatamente después del artefacto de estimulación y no se observa el potencial lento. Nótese que el potencial del hipotálamo que se

muestra en esta figura es prácticamente idéntico al que se observa en la figura 17 (trazo medio). El potencial del núcleo del tracto solitario de la figura 18 es mayor que el de la figura 17 y en él se aprecian mejor sus dos componentes principales.

La figura 19 es una fotomicrografía del bulbo olfatorio donde se observa el trayecto del electrodo de registro utilizado en estos experimentos. En A se encuentra el sitio donde se registró el componente lento; nótese que esta capa histológica es la periglomerular y que ésta se encuentra también en la profundidad, debido a la estructura concéntrica del bulbo olfatorio. En B se observa el sitio donde se registró el componente rápido o primer componente; este sitio corresponde a la capa de células granulosas.

En la figura 20 se muestran, de arriba abajo, los potenciales provocados en el bulbo olfatorio, en el hipotálamo lateral y en el núcleo del tracto solitario antes (primer grupo de trazos) y después (segundo grupo de trazos) de la lesión electrolítica del núcleo del tracto solitario. Ya que el registro del bulbo olfatorio corresponde a la capa periglomerular, sólo se observa el componente lento el cual desaparece después de la lesión de la porción rostral del núcleo citado. Sin embargo, al registrar la capa granulosa se encontró que el componente rápido permaneció a pesar de la lesión del núcleo del tracto solitario. Debe advertirse que el potencial

provocado del hipotálamo lateral solo disminuyó un poco su magnitud a consecuencia de la lesión referida, según se observa en la misma figura. En el último trazo de esta figura, correspondiente a la actividad de campo del núcleo del tracto solitario después de la lesión, se observa que principalmente se afectó el segundo componente del potencial provocado.

La figura 21 es una fotomicrografía donde se aprecia la extensión de la lesión en la porción rostral del núcleo del tracto solitario que anuló el potencial lento del bulbo olfatorio provocado por la estimulación vagal; esta lesión abarcó el 100% de dicha porción rostral. La flecha señala una estructura de referencia, el núcleo del tracto espinal del trigémino.

En animales con el núcleo del tracto solitario intacto, al repetir la estimulación vagal después de seccionar este nervio por arriba del sitio en contacto con el electrodo se observó que los potenciales provocados del bulbo olfatorio, el rápido y el lento, desaparecieron.

El análisis histológico corroboró la posición correcta de los electrodos de registro en el bulbo olfatorio, en el hipotálamo lateral y en la porción rostral del núcleo del tracto solitario.

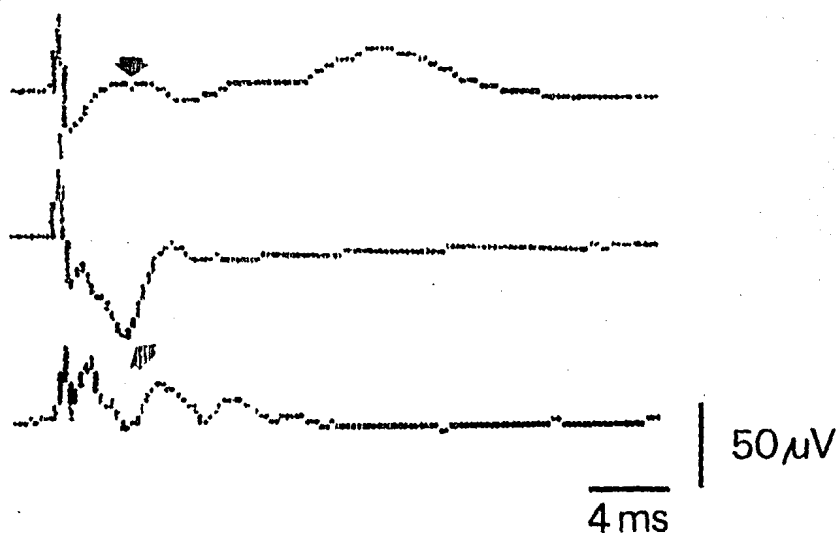


Fig. 17 Potenciales provocados por la estimulación del nervio vago cervical en la capa periglomerular del bulbo olfatorio (trazo superior); hipotálamo lateral (trazo medio) y porción rostral del núcleo del tracto solitario (trazo inferior). Las flechas señalan: en el trazo superior el tiempo en el que aparece el primer componente (véase la Fig. 17) y en el trazo medio la máxima negatividad. Cada trazo muestra el promedio de tres barridos. Polaridad del trazo: positivo hacia arriba.

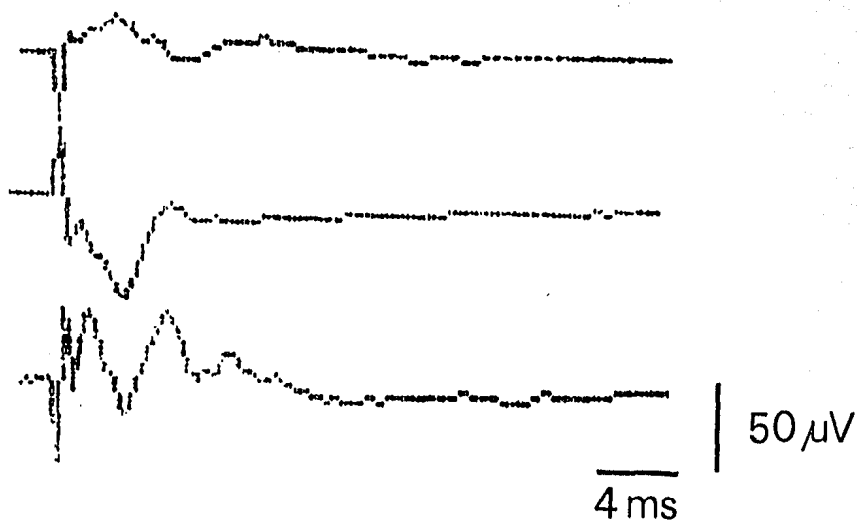


Fig. 18 Potenciales provocados por la estimulación del nervio vago cervical en la capa granulosa del bulbo olfatorio (trazo superior), hipotálamo lateral (trazo medio) y porción rostral del núcleo del tracto solitario (trazo inferior). Cada trazo muestra el promedio de tres barridos. Polaridad del trazo: positivo hacia arriba.

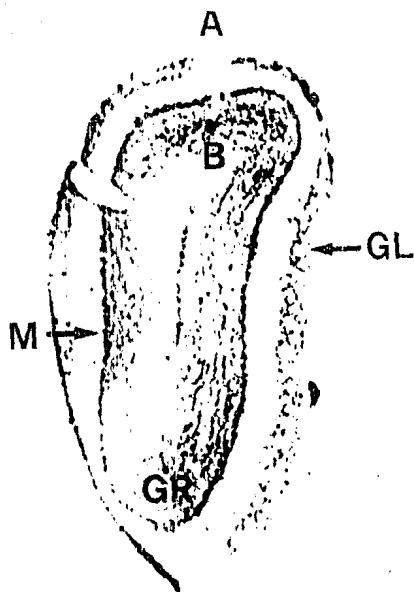


Fig. 19 Fotomicrografía del bulbo olfatorio que muestra el trayecto del electrodo utilizado para registrar los potenciales provocados por la estimulación del nervio vago cervical. A: sitio de registro del componente lento; B: sitio de registro del primer componente. GL: capa glomerular; GR: capa granulosa; M: capa mitral.

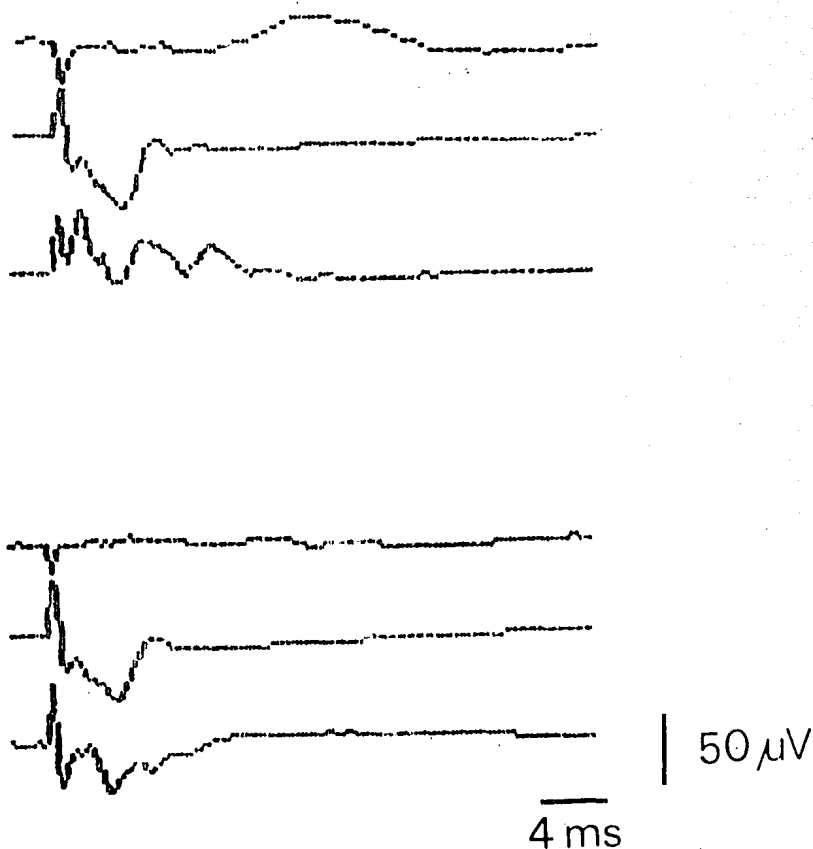


Fig. 20 Potenciales provocados por la estimulación del nervio vago cervical en el bulbo olfatorio (1er. trazo), hipotálamo lateral (2o. trazo) y porción rostral del núcleo del tracto solitario (3er. trazo), antes (tres trazos superiores) y después (tres trazos inferiores) de la lesión electrofítica con 5 mA durante 5 segundos de la porción rostral del núcleo del tracto solitario. Cada trazo muestra el promedio de tres barridos. Polaridad del trazo: positivo hacia arriba.

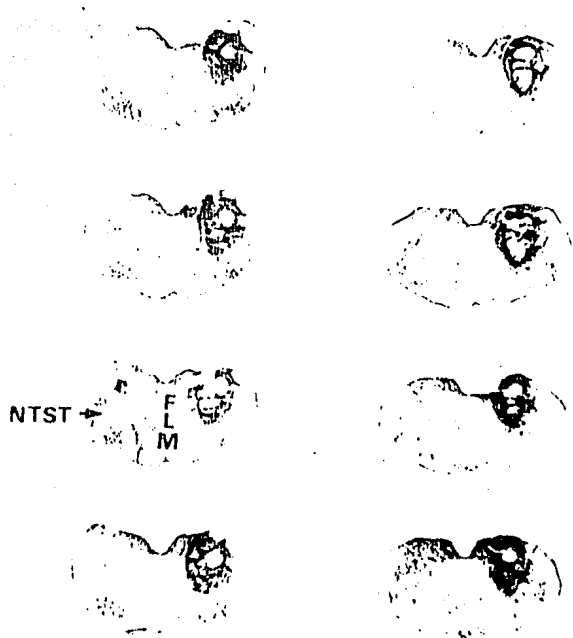


Fig. 21 Fotomicrografía donde se observa la extensión de la lesión, en la porción rostral del núcleo del tracto solitario, que elimina el potencial lento del bulbo olfatorio provocado por la estimulación del nervio vago cervical. FLM: fascículo longitudinal medial; NTST: núcleo del tracto espinal del trigémino.

3.7 POTENCIALES PROVOCADOS: NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO - BULBO OLFATORIO

Se describen los resultados obtenidos al estimular la porción rostral del núcleo del tracto solitario y registrar el potencial provocado en la capa periglomerular del bulbo olfatorio. Antes de efectuar esta maniobra, se registraron los potenciales provocados en ambas estructuras por la estimulación del nervio vago ipsilateral.

En la figura 22 trazo superior, se señala mediante una flecha el potencial provocado en la capa periglomerular del bulbo olfatorio por la estimulación de la porción rostral del núcleo del tracto solitario. Su latencia, medida desde el artefacto de estimulación hasta la máxima negatividad, fue de 7.5 a 8.5 mseg.

El análisis histológico de los sitios registrados confirmó la posición correcta de las puntas de los electrodos de registro en ambas estructuras, al observar la marca en los cortes correspondientes.

3.8 POTENCIALES PROVOCADOS: NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO - HIPOTALAMO LATERAL

En esta sección se describen los resultados obtenidos al estimular la porción rostral del núcleo del tracto solitario y registrar el potencial provocado en el hipotálamo lateral. Antes de realizar esta maniobra experimental, se observó en ambas estructuras el potencial provocado por la estimulación del nervio vago ipsilateral.

En la figura 22 trazo inferior, se observa el potencial provocado en el hipotálamo lateral por la estimulación de la porción rostral del núcleo del tracto solitario; estos sitios se corroboraron histológicamente. Su latencia fue de 3.5 a 4.5 mseg. Obsérvese en esta figura la relación temporal que existe entre el potencial provocado en el bulbo olfatorio y el hipotálamo lateral por la misma estimulación. En ambos casos existe una deflexión negativa pero esta aparece primero en el hipotálamo lateral y después en el bulbo olfatorio.

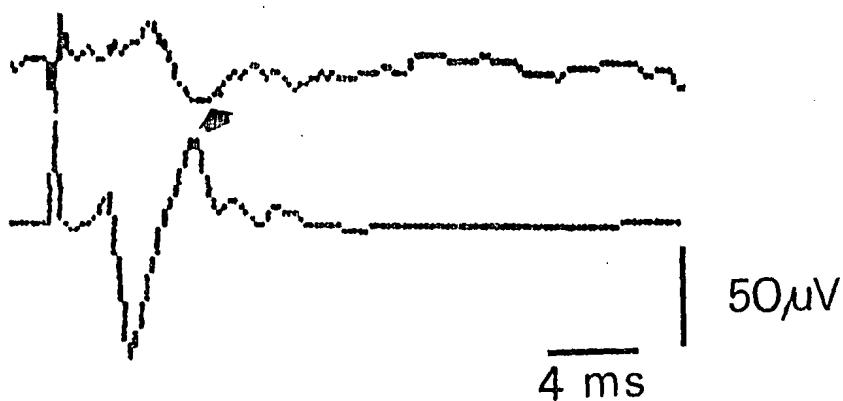


Fig. 22 Potenciales provocados por la estimulación de la porción rostral del núcleo del tracto solitario en la capa periglomerular del bulbo olfatorio (trazo superior) y en el hipotálamo lateral (trazo inferior). La flecha señala el potencial provocado del bulbo olfatorio. Cada trazo muestra el promedio de tres barridos. Polaridad del trazo: positivo hacia arriba.

3.9 ACTIVIDAD UNITARIA: DISTENSION GASTRICA-NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO

En este apartado se describen los efectos observados en la actividad unitaria del núcleo del tracto solitario durante la distensión de las paredes gástricas. Las unidades estudiadas se registraron al explorar verticalmente la porción rostral del núcleo del tracto solitario. Sólo se consideraron las unidades que presentaron efecto en las cuales se comprobó histológicamente la posición correcta del electrodo de registro.

De un total de 15 unidades que modificaron su frecuencia de disparo durante la distensión gástrica, 9 la aumentaron y 6 la disminuyeron. El volumen umbral, o volumen mínimo necesario para modificar la actividad unitaria, fue de 2 ml. Ya que el efecto más común fue un incremento brusco de la actividad unitaria al distender las paredes gástricas, en la figura 23 se compara esta respuesta con la del bulbo olfatorio. En ella se observa que bajo las mismas condiciones de estimulación, la frecuencia

unitaria de la porción rostral del núcleo del tracto solitario aumenta mientras que la del bulbo olfatorio disminuye. En ambos casos el volumen empleado para distender el estómago fue de 5 ml, con un flujo de infusión constante de 1 ml/5 seg.

El análisis histológico de los cerebros reveló la posición correcta de la punta del electrodo de registro en la porción rostral del núcleo del tracto solitario.

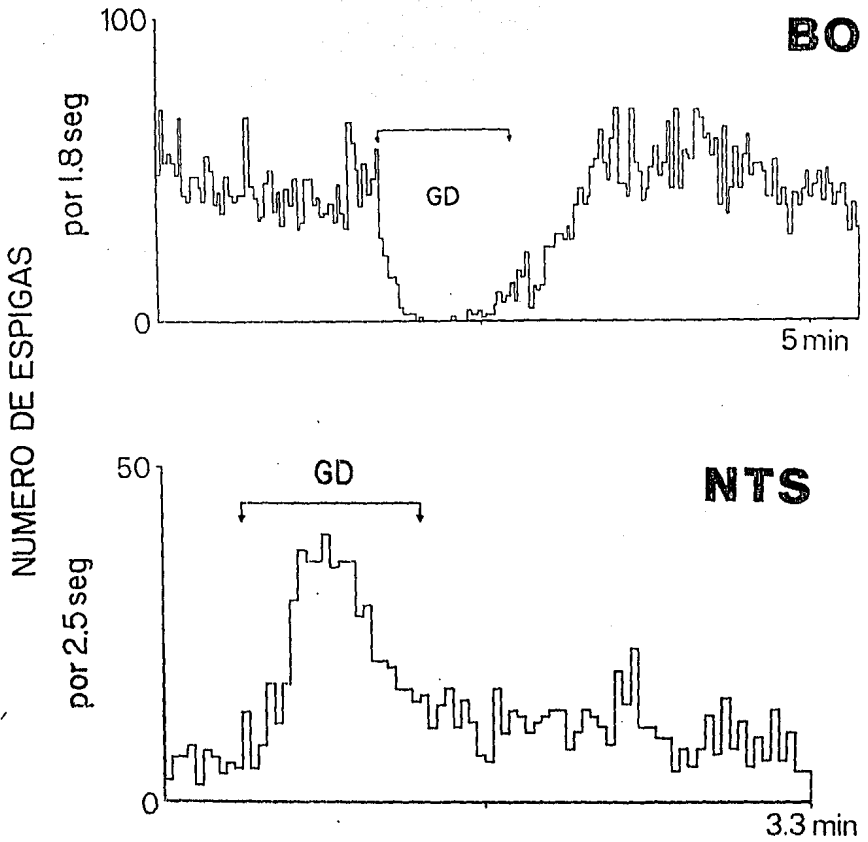


Fig. 23 Histogramas de frecuencia que muestran la respuesta típica de la actividad unitaria de la capa periglomerular del bulbo olfatorio (BO) y de la porción rostral del núcleo del tracto solitario (NTS) a la distensión gástrica (GD) con 5 ml (flujo de 1 ml/5 seg). Las flechas señalan el inicio y terminación de la distensión gástrica.

3.10 IONTOFORESIS: ACETILCOLINA - BULBO OLFATORIO

En este apartado se describen los resultados observados al estudiar las modificaciones de la actividad eléctrica unitaria extracelular de la capa periglomerular del bulbo olfatorio, por la aplicación microiontoforética de acetilcolina. Sólo se consideraron las unidades que mostraron cambio en su frecuencia de descarga durante la aplicación del pulso de la droga, las restantes fueron desechadas.

De un total de 12 unidades que presentaron efecto en su frecuencia de disparo, 7 la aumentaron y 5 la disminuyeron. Estas respuestas se encontraron con 10, 20 y 30 nA observándose una mayor frecuencia de la descarga unitaria al incrementar la corriente de inyección. En todos los casos el tiempo de administración de la droga fue de 30 segundos mientras que la corriente retención fue de 5 nA.

La respuesta comúnmente observada en esta serie de experimentos fue un aumento de la descarga unitaria durante la

aplicación del pulso de acetilcolina. En la figura 24 se compara esta respuesta con un efecto similar observado al distender las paredes gástricas y que se describió en la sección 3.4. En aquellos experimentos de distensión gástrica este patrón de respuesta se denominó incremento fásico.

El análisis histológico corroboró la posición correcta de la punta de la micropipeta utilizada como electrodo de registro. Esta verificación se realizó al observar en los cortes del bulbo olfatorio la marca hecha con HCl a nivel de la capa periglomerular.

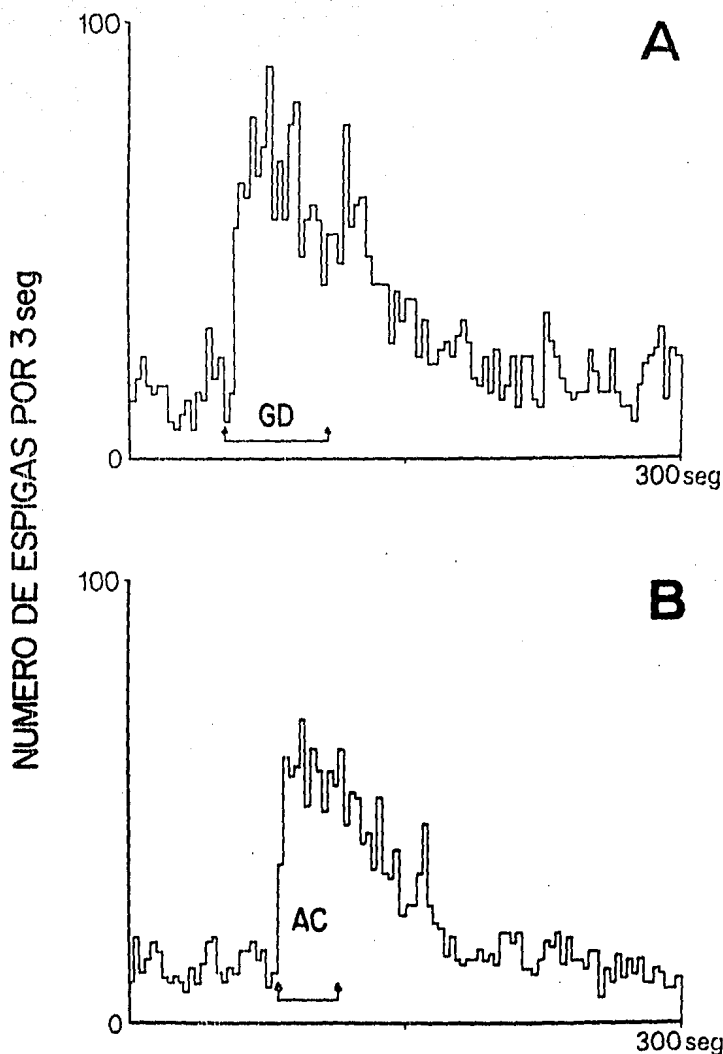


Fig. 24 Histogramas de frecuencia de la actividad unitaria de la capa periglomerular del bulbo olfatorio, que muestran la respuesta a la distensión gástrica con 5 ml (A) y a la aplicación microiontoporética de acetilcolina con 20 nA (B). GD: distensión gástrica; AC: acetilcolina.

4. DISCUSION

Clásicamente, la técnica de potenciales provocados ha sido exhaustivamente empleada en el estudio de sistemas sensoriales. Sin embargo, aunque su uso ha sido amplio en esta área electrofisiológica, su aplicación se ha extendido a experimentos de estimulación antidrómica. En ambos casos, dicha técnica ha contribuido a avanzar en el conocimiento del funcionamiento del sistema nervioso en relación con sus vías y sus comunicaciones sinápticas (Chang, 1958). En el presente estudio, como parte de su aplicación a sistemas sensitivos, se utilizó con el propósito de estudiar la relación funcional entre el X par craneal, neumogástrico o nervio vago y el sistema olfatorio. En el primer grupo de experimentos sobre potenciales provocados (sección 2.1) se obtuvo, en primera instancia, evidencia de esa conexión neural; mientras que en el segundo grupo (secciones 2.6, 2.7 y 2.8), se detallaron algunas características de la misma.

La técnica de registro de actividad eléctrica unitaria extracelular, ampliamente usada en el estudio de procesamiento de

información en el sistema nervioso, se utilizó en el resto de las secciones (excepto en la 2.3) a fin de profundizar en las relaciones funcionales ya evidenciadas mediante la técnica de potenciales provocados y señalar algunos mecanismos probablemente empleados por el sistema nervioso en el manejo de información a este nivel. En este respecto, debe notarse que el estudio de la actividad unitaria estuvo sustentado sobre un análisis probabilístico de frecuencias. Existen múltiples trabajos (Gerstein y cols., 1960; Moore y cols., 1966; Perkel y cols., 1967a; Perkel y cols., 1967b) en los que se acepta como hipótesis básica que la información al viajar en el sistema nervioso se encuentra contenida en los intervalos interespiga y por extensión en la recíproca de estos, la frecuencia de aparición de las espigas. El análisis de los trenes de espigas como procesos puntuales estocásticos intenta a su vez, suavizar el problema complejo que implica conocer los diversos códigos neurales y los mecanismos utilizados por el sistema nervioso en los aún oscuros procesos de integración. Sobre esto último existen también numerosos trabajos (Perkel y Bullock, 1968; Bullock, 1977; Klenm y Sherry, 1982).

El empleo de técnicas histológicas, como la que se describió en la sección 2.3 (peroxidasa de rábano), resulta de gran utilidad al proporcionar datos adicionales y directos que apoyan las proposiciones formuladas a partir de resultados

electrofisiológicos.

La técnica de microiontoforesis a su vez, permite hacer inferencias acerca de los probables mecanismos neuroquímicos involucrados, sustancias neurotransmisoras y efectos farmacológicos. En la sección 2.10 se describió sólo el inicio de lo que debe ser un estudio profundo en el sistema que nos ocupa.

En los experimentos descritos en la sección 3.1 se observó que el potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal, se registró sólo en la capa periglomerular profunda y no en la superficial; hipotéticamente debió registrarse en ambos sitios dada la estructura concéntrica del bulbo olfatorio; sin embargo, en los resultados de la sección 3.6 el potencial provocado sí apareció en los dos sitios mencionados. Esto se atribuyó al hecho de que en los primeros experimentos la superficie del bulbo olfatorio se dañó al horadar el cráneo y levantar las meninges o al descender el macroelectrodo de registro, dadas las dimensiones del bulbo olfatorio; en los resultados reportados en la sección 3.6 el electrodo de registro fue de dimensiones menores. Otra diferencia que llama poderosamente la atención en los resultados de las dos secciones citadas, es la morfología del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal en cada una de ellas ya que tanto la latencia como el sitio de registro

electrofisiológicos.

La técnica de microiontoforesis a su vez, permite hacer inferencias acerca de los probables mecanismos neuroquímicos involucrados, sustancias neurotransmisoras y efectos farmacológicos. En la sección 2.10 se describió sólo el inicio de lo que debe ser un estudio profundo en el sistema que nos ocupa.

En los experimentos descritos en la sección 3.1 se observó que el potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal, se registró sólo en la capa periglomerular profunda y no en la superficial; hipotéticamente debió registrarse en ambos sitios dada la estructura concéntrica del bulbo olfatorio; sin embargo, en los resultados de la sección 3.6 el potencial provocado sí apareció en los dos sitios mencionados. Esto se atribuyó al hecho de que en los primeros experimentos la superficie del bulbo olfatorio se dañó al horadar el cráneo y levantar las meninges o al descender el macroelectrodo de registro, dadas las dimensiones del bulbo olfatorio; en los resultados reportados en la sección 3.6 el electrodo de registro fue de dimensiones menores. Otra diferencia que llama poderosamente la atención en los resultados de las dos secciones citadas, es la morfología del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal en cada una de ellas ya que tanto la latencia como el sitio de registro

fueron los mismos, razón por la que se considera que se trata del mismo potencial provocado. En ambos casos la constante de tiempo del amplificador fue la misma, 0.1 a 0.16 ms, según se mencionó en el método. Tratando de explicar la diferencia señalada se encontró lo siguiente: en el primer caso se utilizó un electrodo bipolar trenzado con una separación de 0.5 mm entre sus puntas, mientras que en el segundo caso un electrodo bipolar concéntrico con una separación de 1 mm entre sus puntas. Por consiguiente, parece razonable que la diferencia morfológica estribó en la forma diferente como se registró el potencial provocado. Esto implica que el vector resultante de la diferencia de potencial generado en la capa periglomerular del bulbo olfatorio por la estimulación vagal, fue registrado de una manera distinta por cada uno de los electrodos también distintos. Naturalmente, en las dos condiciones de registro la latencia del potencial provocado permaneció constante aún cuando existió variación en su morfología. La explicación anterior está fundamentada en trabajos que señalan que la posición del electrodo en el bulbo olfatorio, como en cualquier estructura, es crítica para registrar el campo eléctrico generado (González-Beltrán, en preparación).

En los resultados reportados en la sección 3.1 se observó que al incrementar la intensidad de estimulación vagal se produjo también un aumento en la amplitud del potencial provocado en el bulbo olfatorio. Este fenómeno se explicó por el probable

reclutamiento de un mayor número de fibras estimuladas (Rank, 1973) cuyo umbral debió ser diferente.

Dada la latencia del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal, 15 mseg en promedio, es probable que una vía oligosináptica se encuentre involucrada en la mediación de las influencias que viajan por el nervio vago hasta el bulbo olfatorio (Brazier, 1954).

Ya que la vagotomía experimental por arriba del sitio de estimulación en el nervio vago anuló el potencial provocado en el bulbo olfatorio, es válida la hipótesis de que este nervio es una vía específica de las aferencias responsables de inducir cambios en la actividad eléctrica del bulbo olfatorio. Por consiguiente, este potencial provocado debió ser el resultado de la estimulación directa de las fibras vagales aferentes y no un artefacto ocasionado por efectos secundarios indeseables tales como la contracción muscular. Además, recuérdese que la estimulación del nervio ciático no reprodujo el potencial provocado citado.

Por otro lado, en los resultados de la sección 3.2 se describió como efecto principal una disminución de la frecuencia de descarga unitaria del bulbo olfatorio al estimular el nervio vago. En este respecto, llama la atención que un efecto similar se obtuvo en la actividad unitaria del hipotálamo con la misma

estimulación (Barone y cols., 1979b). En los resultados de la misma sección se observó que la estimulación con bajas frecuencias, 20-40 Hz, fue la más efectiva para producir modificaciones en la frecuencia de descarga de las unidades del bulbo olfatorio. En este sentido se ha afirmado que, en general, el sistema nervioso autónomo responde más eficientemente cuando es estimulado con bajas frecuencias a nivel de sus neuroefectores (Cannon y Rosenblueth, 1937). Cuando se utilizaron frecuencias altas de estimulación, 70-80 Hz, como era de esperarse, se observaron cambios menos pronunciados en la frecuencia de descarga unitaria del bulbo olfatorio.

Debido a que el decremento y en algunos casos la detención de la descarga unitaria ocurrió durante el componente negativo del potencial provocado que se registró en la primera serie de experimentos, es probable que ese efecto se deba a un proceso de hiperpolarización a nivel del bulbo olfatorio. Sin embargo, tal proposición sólo puede ser probada a futuro mediante registros intracelulares.

Por otra parte, al atribuir a la estimulación de las fibras vagales aferentes los efectos observados sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio, resulta de gran importancia descartar la posibilidad de que tales efectos sean secundarios a cambios periféricos dependientes de la frecuencia respiratoria o cardíaca. En este contexto, conviene resaltar los aspectos

siguientes: a) con las magnitudes de estimulación empleadas no se alteró la frecuencia respiratoria o cardíaca; b) se realizó traqueostomía previa a la estimulación; c) la vagotomía cervical por arriba del sitio estimulado suprimió los efectos sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio; d) la latencia breve de los efectos observados y, e) como condición control, la estimulación del nervio ciático no reprodujo estos efectos.

La estimulación eléctrica del nervio vago produjo tanto potenciales provocados como modificación de la frecuencia de la descarga unitaria del bulbo olfatorio homolateral; dicha descarga unitaria se modificó por trenes de estimulación y pulsos únicos. Estos datos sugieren fuertemente la existencia de influencias centrífugas que actúan sobre el bulbo olfatorio y que dependen de impulsos que viajan en el seno de las fibras aferentes vagales, cuyo origen probable es la actividad de los mecanorreceptores de la pared del tracto gastrointestinal. Paintal, en 1954, realizó un estudio de los mecanorreceptores gástricos y su probable papel funcional en mecanismos de hambre y saciedad.

Puesto que en los resultados reportados en la sección 3.4 se observó que las unidades que respondieron a la distensión gástrica, se localizaron en la capa periglomerular del bulbo olfatorio y en esta misma capa se localizaron las unidades que respondieron a la estimulación vagal (García-Dfáz, 1984), es probable que ambos efectos sean mediados por la misma vía. En

este sentido, existe la probabilidad de que las fibras vagales que viajan a través del núcleo del tracto solitario conduzcan tales influencias (Gwyn y cols., 1979; Kalia y Mesulam, 1980). Este núcleo recibe información a través de los nervios facial y glossofaríngeo y es un sitio de confluencia para ambas señales antes de que estas alcancen regiones encefálicas más elevadas. Como un dato adicional e interesante, la estimulación del tracto olfatorio produce una marcada inhibición del tono gástrico en gatos (Strom y Uvnäs, 1950).

La distensión gástrica utilizada en el presente trabajo durante el registro de la actividad unitaria del bulbo olfatorio produjo latencias cortas, menores de un segundo. Estas latencias se produjeron con tan solo 5 ml de distensión gástrica a un flujo de 1 ml/5 seg mientras que en estudios sobre la actividad unitaria del hipotálamo lateral (Barone y cols., 1979a), se administraron 12.5 ml de agua con un flujo de 1.15 ml/min. Sin embargo, los cambios tónicos y fásicos que se encontraron en los dos estudios fueron similares.

El decremento del período Z cuando se aumentó el volumen de distensión gástrica puede atribuirse a un aumento en el número de receptores gástricos activados (Davidson, 1972); por consiguiente, también a un aumento de la actividad en las aferencias vagales. Los cambios complejos observados en la frecuencia de descarga unitaria del bulbo olfatorio con volúmenes

mayores de 8 ml, son difíciles de explicar; no obstante, el rápido llenado del estómago con volúmenes tan grandes puede resultar en la estimulación de otro tipo de receptores tales como los del dolor y por lo tanto en la activación de un sistema distinto.

En los experimentos de distensión gástrica con volúmenes crecientes se encontró que el volumen umbral o volumen mínimo para producir una respuesta en el núcleo del tracto solitario y el hipotálamo lateral fue de 2 ml, mientras que para el bulbo olfatorio de 3 ml. Con un volumen de 5 ml, la respuesta más común del bulbo olfatorio y del hipotálamo lateral fue una disminución de la actividad unitaria, en contraste con la del núcleo del tracto solitario que fue un aumento de la misma. Al estimular el nervio vago con pulsos únicos y analizar la actividad unitaria del bulbo olfatorio mediante histogramas periestímulo, se observó que el tiempo en que es más probable que la actividad unitaria disminuya es de 15 msec. Este dato es congruente con el potencial provocado en el mismo sitio cuya latencia al pico es de 14 a 16 msec.

Price, en 1968, mostró evidencias de que las fibras centrifugas del bulbo olfatorio terminan en las capas granulosa y periglomerular. En este estudio la técnica histológica de la peroxidasa de rábano para el marcado de neuronas, reveló que las unidades que mostraron efecto tanto a la estimulación vagal como

a la distensión gástrica se localizaron precisamente a nivel de la capa periglomerular.

Con base en los siguientes datos: a) concentraciones elevadas de colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa en la capa glomerular del bulbo olfatorio (Godfrey y cols., 1980); b) evidencia de que los elementos colinérgicos de esta estructura pueden originarse en regiones más caudales del cerebro tales como el tubérculo olfatorio y el área preóptica lateral (Shute y Lewis, 1967); c) somas de células colinérgicas en los núcleos hipotalámicos posteriores (Brownstein y cols., 1975); d) el conocimiento común de que el nervio vago es una vía colinérgica (Houssay y cols., 1958) y, e) el hecho de que en los experimentos de microiontoforesis realizados en este trabajo se hayan encontrado unidades periglomerulares sensibles a la acetilcolina, puede hacerse esta proposición: si la capa periglomerular posee elementos colinérgicos y el nervio vago es una vía colinérgica, es probable que las influencias centrifugas hacia esta capa del bulbo olfatorio sean mediadas por acetilcolina. Sin embargo, como se señaló anteriormente, en este respecto deberán realizarse otros estudios a fin de confirmar tal proposición.

Es bien conocido que el olor de los alimentos es un estímulo poderoso de los receptores olfatorios (Devor y Murphy, 1973). También se sabe que esta información alcanza al hipotálamo ya que se ha reportado que la actividad de las neuronas hipotalámicas

está modulada por la estimulación odorífera (Scott y Pfaffman, 1972). El hipotálamo también recibe información sensorial que llega desde el estómago a través del nervio vago (Anand and Pillai, 1967). La distensión de las paredes gástricas modifica la actividad unitaria del bulbo olfatorio (Chaput y Holley, 1976; Kogure y cols., 1978; García-Díaz y cols., 1985). En este estudio se encontró que dicha distensión gástrica también modifica la actividad unitaria del núcleo del tracto solitario y del hipotálamo lateral. Por lo tanto, el significado de la información olfatoria que viaja hacia el centroencéfalo puede estar modulada por señales mediadas por el nervio vago procedentes del tracto gastrointestinal y que relevan en el núcleo del tracto solitario o en el hipotálamo lateral.

Los resultados hasta aquí discutidos apoyan la hipótesis de que las fibras nerviosas vagales aferentes conducen información visceral hasta regiones del tallo cerebral y diencefálicas, produciendo una influencia centrifuga que modifica la actividad eléctrica del bulbo olfatorio. En estos resultados se describió que la vagotomía cervical disminuyó o anuló los efectos de la distensión gástrica sobre la actividad unitaria del bulbo olfatorio; este dato concuerda con la hipótesis de que la información mecanorreceptiva procedente del tracto gastrointestinal viaja a través de las fibras aferentes vagales. Sin embargo, no se descarta completamente la posibilidad de que otra vía además de la vagal esté participando en el mismo

fenómeno. A favor de lo anterior existen por lo menos dos argumentos derivados directamente de los mismos resultados: a) después de la vagotomía en algunas unidades del bulbo olfatorio solamente disminuyó el efecto de la distensión gástrica y b) uno de los criterios empleados en la evaluación de las unidades que mostraron efecto, señaló que sólo se consideraron aquellas modificaciones de la frecuencia de descarga unitaria iguales o superiores al 50%; esto significa que pudieron existir unidades con efecto menor después de la vagotomía cuya respuesta no fue considerada como efecto positivo.

Ya que tanto el bulbo olfatorio como el hipotálamo lateral responden a la distensión de las paredes gástricas en la rata y esto mismo se ha encontrado en el conejo (Kogure y cols., 1978), cobran apoyo algunas inferencias que se han hecho acerca de la influencia del hipotálamo sobre los aspectos siguientes: la modulación de la ingesta alimenticia (Anand y Brobeck, 1951; Anand y Pillai, 1967), la modulación de las señales originadas por el olor de los alimentos (Devor y Murphy, 1973; Scott y Pfaffman, 1972) y, la regulación del estado nutricional (Giachetti y cols., 1970; Larue y Le Magnen, 1972; Zilstorff-Pedersen, 1955).

En el potencial provocado en la porción rostral del núcleo del tracto solitario por la estimulación vagal se observaron dos componentes positivos; estos componentes resultaron probablemente

de la estimulación de tipos diferentes de fibras reportadas por otros autores (Nosaka y cols., 1978).

El componente rápido del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal es aún difícil de interpretar. Sin embargo, el componente lento con latencia al pico de 14 a 16 mseg que apareció claramente a nivel de la capa periglomerular, fue eliminado al destruir la porción rostral del núcleo del tracto solitario y su interpretación se discute enseguida. La latencia promedio del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del núcleo del tracto solitario fue de 8 mseg. Un examen del potencial provocado en esta última estructura por la estimulación vagal reveló dos componentes; la latencia promedio del segundo componente fue de 7 mseg. Aparentemente este componente corresponde a un grupo de fibras lentas que relevar en el núcleo del tracto solitario. Si se suman los 7 mseg que corresponden a estas fibras lentas con los 8 mseg anteriores, se obtiene la latencia promedio del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación vagal. Por otro lado, dado que la lesión electrofítica del núcleo del tracto solitario no suprimió el potencial provocado del hipotálamo por la estimulación vagal, es probable que la vía nervio vago-bulbo olfatorio viaje a través del núcleo del tracto solitario y no a través del hipotálamo lateral, aunque no se descartan proyecciones adicionales hasta esta última estructura ya

que la estimulación vagal y la distensión gástrica modificaron su actividad.

Estos resultados experimentales demostraron que los efectos reguladores de la actividad del bulbo olfatorio pueden atribuirse directamente a la estimulación del nervio vago cuya activación funcional, entre otras, puede deberse a la distensión de las paredes gástricas y que tales efectos poseen una latencia relativamente corta.

En la figura 25 se observa un diagrama de las probables conexiones involucradas en la modulación centrifuga de la actividad eléctrica del bulbo olfatorio por aferencias gástricas. Los signos positivo y negativo significan el efecto predominante obtenido en la frecuencia de descarga unitaria de cada estructura, incremento y decremento respectivamente, por la distensión de las paredes gástricas; nótese que mientras la descarga unitaria del núcleo del tracto solitario crece, la del bulbo olfatorio y del hipotálamo lateral decrece. También se muestra el resultado obtenido al analizar las latencias promedio de los potenciales provocados en cada estructura por la estimulación vagal; obsérvese que la suma de las latencias del nervio vago cervical al núcleo del tracto solitario y de este último al bulbo olfatorio, es igual a la latencia obtenida del nervio vago cervical al bulbo olfatorio. En esta figura no se muestra la latencia del potencial provocado en el hipotálamo

lateral por la estimulación del núcleo del tracto solitario cuya latencia, de 4 mseg en promedio, no concuerda con la latencia del potencial provocado en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio vago cervical.

Finalmente, como estos estudios están aún en progreso, muchas interrogantes deberán resolverse en el futuro; sin embargo, según se planteó, es probable que una vía neural relativamente corta esté mediando cambios en el bulbo olfatorio asociados a la distensión gástrica y relacionados con condiciones de ayuno y saciedad en ratas. De esta manera, es probable que la propuesta vía nervio vago-bulbo olfatorio forme parte de un sistema complejo encargado de la modulación de la conducta alimenticia y la percepción olfatoria.

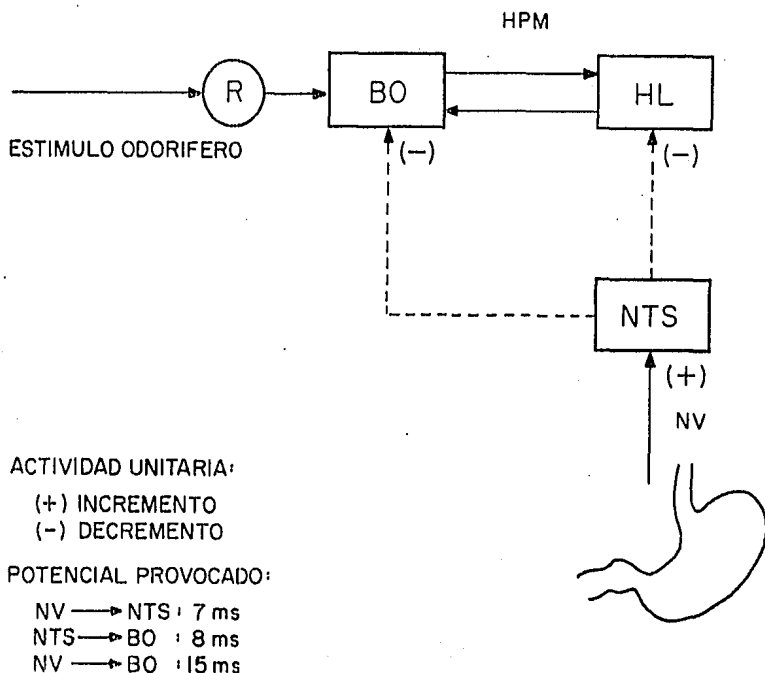


Fig. 25 Diagrama postulado de las conexiones involucradas en la modulación centrifuga de la actividad eléctrica del bulbo olfatorio por aferencias gástricas. R: receptores olfatorios, BO: bulbo olfatorio, HPM: haz prosencefálico medial, HL: hipotálamo lateral, NTS: núcleo del tracto solitario, NV: nervio vago. Línea continua: vía neural directa, línea punteada: vía neural indirecta. Se muestran los efectos predominantes sobre la frecuencia de descarga unitaria de cada estructura al distender las paredes gástricas y las latencias promedio del potencial provocado al estimular el nervio vago cervical.

5. CONCLUSIONES

En este capítulo se mencionan las principales conclusiones del presente trabajo.

a) Dado que la estimulación eléctrica del nervio vago cervical provocó un potencial en el bulbo olfatorio y modificó la frecuencia de la actividad neuronal unitaria del mismo, se propone la existencia de una vía neural entre estas dos estructuras.

b) La distensión de las paredes gástricas reprodujo los efectos inducidos en la actividad unitaria del bulbo olfatorio por la estimulación vagal. Este dato sugiere que ciertas modificaciones que experimenta la actividad eléctrica del bulbo olfatorio, están en función de la actividad de las fibras aferentes vagales cuyo origen es visceral.

c) El análisis histológico reveló que los sitios del bulbo olfatorio que responden a la estimulación vagal y a la distensión gástrica, corresponden a la capa periglomerular. Lo anterior

sugiere que es a nivel de esta capa, donde se ejercen centrifugamente los efectos moduladores dependientes de la actividad aferente vagal.

d) Ya que la estimulación vagal y la distensión gástrica modificaron también la actividad eléctrica del hipotálamo lateral y de la porción rostral del núcleo del tracto solitario, es probable que estructuras límbicas y del tallo cerebral participen como centrales integradoras en la vía nervio vago-bulbo olfatorio.

e) La lesión electrofítica de la porción rostral del núcleo del tracto solitario suprimió el potencial lento del bulbo olfatorio provocado por la estimulación vagal, sin alterar el potencial provocado en el hipotálamo lateral por la misma estimulación. Este resultado hace suponer que la vía nervio vago-bulbo olfatorio releva en el núcleo del tracto solitario y no en el hipotálamo lateral. Sin embargo, no se descartan proyecciones adicionales para esta última estructura ya que su actividad eléctrica también se modificó por la estimulación vagal y la distensión gástrica.

f) La actividad neuronal unitaria de la capa periglomerular del bulbo olfatorio fue sensible a la aplicación microiontoforética de acetilcolina. Este dato es una evidencia de que la vía neural propuesta es de naturaleza colinérgica.

Empero, los resultados aquí expuestos no son suficientes para sustentar adecuadamente una afirmación de esta índole y en este respectó deberán realizarse otros experimentos.

g) La distensión moderada de las paredes gástricas modificó la frecuencia de descarga neuronal unitaria de la porción rostral del núcleo del tracto solitario, del hipotálamo lateral y de la capa periglomerular del bulbo olfatorio. Si a los resultados anteriores se suma el conocimiento de que las condiciones de ayuno y saciedad se asocian con cambios en la tensión de las paredes gástricas, es probable que las influencias nervio vago-bulbo olfatorio participen en los mecanismos encargados de modular la sensibilidad olfatoria y la ingestión de agua y alimentos en estos roedores.

R E F E R E N C I A S

- Aguilar-Baturoni, H. U., R. Guevara-Aguilar, H. Aréchiga y C. Alcocer-Cuarón. Hypothalamic influences on the electrical activity of the olfactory pathway. *Brain Res. Bull.* 1: 263-272, 1976.
- Alberts, J. R. Producing and interpreting experimental olfactory deficits. *Physiol. Behav.* 12: 657-670, 1974.
- Alcocer-Cuarón y H. Aréchiga. La regulación centrifuga de los receptores sensoriales. *Gac. Med. Mex.* 98: 379-392, 1968.
- Anand, B. K. y J. R. Brobeck. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J. Biol. Med.* 24: 123-140, 1951.
- Anand, B. K. y R. V. Pillai. Activity of single neurons in the hypothalamic feeding centers: Effects of gastric distension. *J. Physiol.* 192: 63-77, 1967.
- Barone, F. C., M. J. Waxner, C. S. Weiss y C. R. Alnli. Effects

- of intragastric water infusion and gastric distension on hypothalamic neuronal activity. *Brain Res. Bull.* 4: 267-282, 1979.
- Barone, F. C., M. J. Wayner, H. U. Aguilar-Baturoni y R. Guevara-Aguilar. Effects of cervical vagus nerve stimulation on hypothalamic neuronal activity. *Brain Res. Bull.* 4: 381-391, 1979.
- Barone, F. C., M. J. Wayner, H. U. Aguilar-Baturoni y R. Guevara-Aguilar. A bipolar electrode for peripheral nerve stimulation. *Brain Res. Bull.* 4: 421-422, 1979.
- Barone, F. C., M. J. Wayner, S. L. Scharoun, R. Guevara-Aguilar y H. U. Aguilar-Baturoni. Afferent connections to the lateral hypothalamus: a horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res. Bull.* 7: 75-88, 1981.
- Blomquist, A. J. y A. Antem. Localization of the terminals of the tongue afferents in the nucleus of the solitary tract. *J. Comp. Neurol.* 124: 127-130, 1965.
- Brazier, M. A. B. The action of anaesthetics on the nervous system. En: *Brain Mechanisms and Consciousness*, editado por J. F. Delafresnaye. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1954, p. 163-193.
- Broadwell, R. D. y D. M. Jacobowitz. Olfactory relationships of

- the telencephalon and diencephalon in the rabbit. III. The ipsilateral centrifugal fibers to the olfactory bulbar and retrobulbar formations. *J. Comp. Neurol.* 170: 321-346, 1976.
- Brownstein, M., R. Kobayashi, M. Paikovits y J. M. Saavedra. Choline acetyltransferase levels in diencephalic nuclei of the rat. *J. Neurochem.* 24: 35-38, 1975.
- Bullock, T. H. Integration at the neuronal level. En: *Introduction to Nervous System*, editado por W. H. Freeman. San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1977, p. 203-240.
- Cannon, W. B. y A. Rosenblueth. The excitability of autonomic effectors. En: *Autonomic Neuro-Effector Systems*, editada por P. Bard, L. R. Blinks y W. B. Cannon. New York: Macmillan, 1937, p. 128-148.
- Chang, H. T. The evoked potentials. En: *Handbook of Physiology*, editado por J. Field y cols. Washington, D. C.: Amer. Physiol. Soc., 1959, p. 299-313.
- Chaput, M. y A. Holley. Olfactory bulb responsiveness to food odour during stomach distension in the rat. *Chemical Senses and Flavor.* 2: 189-201, 1976.
- Colin-Jones, D. G. y R. L. Himsworth. The location of the chemoreceptor controlling gastric acid secretion during

- hypoglycemia. *J. Physiol.* 206: 397-409, 1970.
- Davidson, J. S. Response of single vagal afferent fibres to mechanical and chemical stimulation of the gastric and duodenal mucosa in cats. *Q. J. Exp. Psychol.* 57: 405-416, 1972.
- Dennis, B. J. y D. I. B. Kerr. Origins of olfactory bulb centrifugal fibres in the cat. *Brain Res.* 110: 593-600, 1976.
- De Olmos, J., H. Hardy y L. Heimert. The afferent connections of the main and the accessory olfactory bulb formations in the rat: An experimental HRP study. *J. Comp. Neurol.* 181: 213-244, 1978.
- Deutsch, J. A. Dietary control and the stomach. *Prog. Neurob.* 20: 313-332, 1983.
- Devor, M. y M. R. Murphy. The effect of peripheral olfactory blockade on the social behavior of the male golden hamster. *Behav. Biol.* 9: 31-42, 1973.
- Fex, J. Auditory activity in centrifugal and centripetal cochlear fibres in cat. *Acta Physiol. Scand.* 55: 189, 1962.
- García-Díaz, D. E., H. U. Aguilar-Baturoni, R. Guevara-Aguilar y M. J. Wayner. Vagus nerve stimulation modifies the

- electrical activity of the olfactory bulb. *Brain Res. Bull.* 12: 527-537, 1984.
- García-Díaz, D. E., H. U. Aguilar-Baturoni, R. Guevara-Aguilar y M. J. Wayner. Olfactory bulb neurons respond to gastric distension. *Brain Res. Bull.* 15: 661-664, 1985.
- García-Díaz, D. E., L. L. Jiménez-Montúfar, C. González-Belltrán, R. Guevara-Aguilar y M. J. Wayner. Vagal nerve olfactory bulb pathway: evoked potentials. *Brain Res. Bull.*, 1986 (en prensa).
- Gerstein, G. L. y N. Y. S. Kiang. An approach to the quantitative analysis of electrophysiological data from single neurons. *Biophys. J.* 1: 15-28, 1960.
- Glachetti, I., P. MacLeod y J. Le Magnen. Contrôle centrifuge des afferences olfactives en fonction des états de faim et de satiété chez le rat. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*. 164: 841-846, 1970.
- Godfrey, D. A., C. D. Ross, A. D. Herrmann y F. M. Matschinsky. Distribution and derivation of cholinergic elements in the rat olfactory bulb. *Neuroscience*. 5: 273-292, 1980.
- Guevara-Aguilar, R. y H. U. Aguilar-Baturoni. Olfactory pathway evoked potentials in response to hypothalamic stimulation. *Brain Res. Bull.* 3: 467-474, 1978.

- Guzmán-Flores, C., M. V. Alcaraz and A. Fernández-Guardiola. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol. Univ. Nac. Méx. 16: 29-31, 1958.
- Gwyn, D. G., R. A. Leslie y D. A. Hopkins. Gastric afferents to the nucleus of the solitary tract in the cat. Neurosci. Lett. 14: 13-17, 1979.
- Helmer, L. Synaptic distribution of centripetal y centrifugal nerve fibers in the olfactory system of the rat. An experimental anatomical study. J. Anat. 103: 413-432, 1968.
- Hernández-Peón, R. Reticular mechanisms of sensory control. En: Sensory Communication. Editado por W. W. A. Rosenblith. New York: J. Wiley & Sons., 1961. p. 497.
- Holley, A. y P. MacLeod. Transduction et codage des informations olfactives chez les vertébrés. J. Physiol. Paris. 73: 725-828, 1977.
- Houssay, B. A., J. T. Lewis, O. Orías, E. B. Menéndez, E. Hug, V. G. Foglia y L. F. Leloir. El sistema nervioso autónomo. En: Fisiología Humana, editado por S. De Amorrotu. Buenos Aires: El Ateneo, 1958, p. 1341-1376.

- Guzmán-Flores, C., M. V. Alcaraz and A. Fernández-Guardiola. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol. Univ. Nac. Méx. 16: 29-31, 1958.
- Gwyn, D. G., R. A. Leslie y D. A. Hopkins. Gastric afferents to the nucleus of the solitary tract in the cat. Neurosci. Lett. 14: 13-17, 1979.
- Helmer, L. Synaptic distribution of centripetal y centrifugal nerve fibers in the olfactory system of the rat. An experimental anatomical study. J. Anat. 103: 413-432, 1968.
- Hernández-Peón, R. Reticular mechanisms of sensory control. En: Sensory Communication. Editado por W. W. A. Rosenblith. New York: J. Wiley & Sons., 1961. p. 497.
- Hollex, A. y P. MacLeod. Transduction et codage des informations olfactives chez les vertébrés. J. Physiol. Paris. 73: 725-828, 1977.
- Houssay, B. A., J. T. Lewis, O. Orfas, E. B. Menéndez, E. Hug, V. G. Foglia y L. F. Leloir. El sistema nervioso autónomo. En: Fisiología Humana, editado por S. De Amorrotu. Buenos Aires: El Ateneo, 1958, p. 1341-1376.

- Hunt, C. C. y S. W. Kuffler. Further study of efferent small nerve fibres to mammalian muscle spindles. Multiple spindle innervation and activity during contraction. *J. Physiol.* 113: 263, 1951.
- Kalia, M. y M. M. Mesulam. Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat. II. Laryngeal, tracheobronchial, pulmonary, cardiac and gastrointestinal branches. *J. Comp. Neurol.* 193: 467-508, 1980.
- Kerr, F. W. L. Facial vagal and glossopharyngeal nerves in the cat. Afferent connections. *Arch. Neurol. (Chic.)* 6: 264-281, 1962.
- Klemm, W. R. y C. J. Sherry. Do neurons process information by relative intervals in spike trains?. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6: 429-437, 1982.
- Kogure, S., N. Onoda y S. F. Takagi. Olfactory responses of the lateral hypothalamic neurons to stomach distension in unanesthetized rabbits. *Proc. Jpn. Acad.* 54: 478-483, 1978.
- Larue, C. G., y J. Le Magnen. The olfactory control of meal pattern in rats. *Physiol. Behav.* 9: 817-821, 1972.
- Leslie, R. A., D. G. Gwyn y D. A. Hopkins. The central

- distribution of the cervical vagus nerve and gastric afferent and efferent projections in the rat. *Brain Res. Bull.* 8: 37-43, 1982.
- Livingstone, R. Central control of receptors and sensory transmission systems. En: *Handbook of Physiology*. Editado por J. Field y cols. The American Physiological Society, 1959, p. 741.
- Maddison, S. y R. I. Horrell. Hypothalamic unit responses to alimentary perfusions in the anesthetized rat. *Brain Res. Bull.* 4: 259-266, 1979.
- Moore, G. P., D. H. Perkel y J. P. Segundo. Statistical analysis and functional interpretation of neuronal spike data. *Ann. Rev. Physiol.* 28: 493-522, 1966.
- Morgane, P. J. Limbic-hypothalamic-midbrain interaction in thirst motivated behavior. En: *Thirst in the Regulation of Body Water*, editado por M. J. Wayner. New York: Pergamon Press, 1964, p. 429-455.
- Nakashima, M., K. Mori y S. F. Takagi. Centrifugal influences on olfactory bulb activity in the rat. *Brain Res.* 154: 301-316, 1978.
- Nauta, W. J. H., M. P. Pritz y R. J. Lasek. Afferents to the rat caudo-putamen studied with horseradish peroxidase. An

- evaluation of a retrograde neuroanatomical research method. Brain Res. 67: 219-238, 1974.
- Nosaka, S., T. Kanaïke y K. Yasunaga. Central vagal organization in rats: an electrophysiological study. Exp. Neurol. 60: 405-419, 1978.
- Novin, D. Visceral mechanisms in the control of food intake. En: Hunger: Basic Mechanisms and Clinical Implications, editado por D. Novin, W. Wyrwicka y G. Bray. New York: Raven Press, 1976, p. 357-367.
- Ottoson, D. Olfaction. En: Physiology of the Nervous System. New York: Oxford University Press, 1983, p. 429-447.
- Pager, J. Ascending olfactory information and centrifugal influxes contributing to a nutritional modulation of the rat mitral cell responses. Brain Res. 140: 251-279, 1978.
- Pager, J., I. Giachetti, A. Holley y J. Le Magnen. A selective control of olfactory bulb electrical activity in relation to food deprivation and satiety in rats. Physiol. Behav. 9: 573-579, 1972.
- Paintal, A. S. A study of gastric stretch receptors. Their role in the peripheral mechanism of satiation of hunger and thirst. J. Physiol. 126, 255-270, 1954.
- Pellegrino, L. J., A. S. Pellegrino y A. J. Cushman. A

- Stereotaxic Atlas of the Rat Brain. New York: Plenum Press, 1979.
- Peñalosa-Rojas, J. H., B. Barrera-Mera y C. Kubli-Garfias. Behavioral and brain electrical changes after vagal stimulation. *Exp. Neurol.* 23: 378-383, 1969.
- Perkel, D. H. y T. H. Bullock. Neural coding. *Neurosciences Res. Prog. Bull.* 6: 227-263, 1968.
- Perkel, D. H., G. L. Gerstein y G. P. Moore. Neuronal spike trains and stochastic point processes. I. The single spike train. *Biophys. J.* 7: 391-418, 1967.
- Perkel, D. H., G. L. Gerstein y G. P. Moore. Neuronal spike trains and stochastic point processes. II. Simultaneous spike trains. *Biophys. J.* 7: 419-440, 1967.
- Price, J. L. The termination of centrifugal fibres in the olfactory bulb. *Brain Res.* 7: 483-486, 1968.
- Ramón y Cajal, S. Origen y terminación de la fibras nerviosas olfatorias. *Gaceta Sanitaria de Barcelona.* 506: 133-212, 1890.
- Ramón y Cajal, S. Corteza olfativa. En: *Histología del Sistema Nervioso de los Vertebrados.* Editado por N. Moya. Madrid, 1904, p. 913-940.

- Ramón y Cajal, S. *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des vertébrés*. Editado por Maloine. Paris, 1909, p. I: 776 y II: 324.
- Ramón y Cajal, S. *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*. Editado por Maloine. Paris, 1911.
- Ranck, J. B. Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: a review. *Brain Res.* 98: 417-440, 1975.
- Ricardo, J. y E. T. Koh. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.* 153: 1-26, 1978.
- Scharoun, S. L., F. C. Barone, M. J. Wayner y S. M. Jones. Vagal and gastric connections to the central nervous system determined by the transport of horseradish peroxidase. *Brain Res. Bull.* 13: 573-583, 1984.
- Scott, J. W. y C. Pfaffman. Characteristics of responses of lateral hypothalamic neurons to stimulation of the olfactory system. *Brain Res.* 48: 251-264, 1972.
- Shafa, F. y E. Heisami. A horseradish peroxidase study of the origin of central projections to the rat olfaction bulb. *Brain Res.* 136: 355-359, 1977.

- Shepherd, G. M. Olfactory bulb. En: *The Synaptic Organization of the Brain*. New York: Oxford University Press, 1979, p. 152-183.
- Shute, C. C. D. y P. R. Lewis. The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. *Brain*. 90: 497-520, 1967.
- Ström, G. y B. Uvnäs. Motor responses of gastrointestinal tract and bladder to topical stimulation of the frontal lobe, basal ganglia and hypothalamus in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 21: 90-104, 1950.
- Wayner, M. J. Specificity of behavioral regulation. *Physiol. Behav.* 12: 851-869, 1974.
- Wayner, M. J., F. C. Barone, C. C. Loullis y S. R. Zetlan. Effects of thalamic taste nuclei lesions on the ingestion of sapid solutions and schedule induced and schedule dependent behavior. *Physiol. Behav.* 20: 427-434, 1978.
- Wayner, M. J., F. C. Barone, S. L. Scharoun, R. Guevara-Aguilar y H. U. Aguilar-Baturoni. Lateral preoptic area and lateral hypothalamic interconnections demonstrated by horseradish peroxidase. *Brain Res. Bull.* 5: 181-188, 1980.
- Zarco de Coronado, I., F. C. Barone y M. J. Wayner. Contribution

- of the cervical sympathetic chain to the gastric afferent input to the hypothalamus. Soc. Neurosci. Abstr. 10: 831, 1984.
- Zarco de Coronado, I., F. C. Barone y M. J. wayner. Gastric afferent inputs to the mesencephalon and hypothalamus. Soc. Neurosci. Abstr. 8: 600, 1982.
- Zilstorff-Pedersen, K. Olfactory threshold determinations in relation to food intake. Acta Otolaryngol. (Estocolmo). 45: 86-90, 1953.