

03062  
8  
2eje.

EL PAPEL DEL NUCLEO BASALIS MAGNOCELULARIS EN LA INTEGRACION  
NEURAL DE LOS HABITOS ALIMENTICIOS

TESIS DE MAESTRIA  
JUAN CARLOS LOPEZ GARCIA  
MEXICO 1994

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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.

Este trabajo se realizó en el laboratorio y bajo la dirección del  
Dr. Ricardo Tapia en el Instituto de Fisiología Celular de la  
Universidad Nacional Autónoma de México

## INDICE

RESUMEN .....	5
ABREVIATURAS EMPLEADAS .....	6
NEUROFISIOLOGIA DE LOS HABITOS ALIMENTICIOS .....	7
Aspectos motivacionales de los hábitos alimenticios.	
Hambre y Saciedad .....	7
Vías neurales del hambre y de la saciedad .....	13
Aferencias de los núcleos hipotalámicos .....	14
Conexiones intrahipotalámicas .....	16
Eferencias de los núcleos hipotalámicos .....	19
Retroalimentación endócrina hacia el hipotálamo .....	22
Aspectos integrativos de los hábitos alimenticios.	
El condicionamiento aversivo a los sabores .....	23
Vías neurales del CAS .....	28
Vía del gusto .....	29
Vía de la náusea .....	33
Vía de la respuesta aversiva .....	34
Sitios de integración .....	36
EL NUCLEO BASALIS MAGNOCELULARIS .....	41
Neuroanatomía de los sistemas colinérgicos .....	41
Grupo Ch1 (Septum medial) .....	42
Grupo Ch2 (Rama vertical del núcleo de la banda diagonal) .....	42
Grupo Ch3 (Rama horizontal del núcleo de la banda diagonal) .....	42
Grupo Ch4 (NBM) .....	44
Grupos Ch5 y Ch6 (Formación reticular pontomesencefálica) .....	45
Aferencias del NBM .....	46

Fisiología del NBM .....	47
La acetilcolina y el aprendizaje .....	48
El NBM y el aprendizaje .....	49
OBJETIVOS .....	59
RESULTADOS .....	60
Effects of excitotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis on conditioned taste aversion in the rat .....	61
DISCUSION GENERAL .....	62
REFERENCIAS .....	67

## RESUMEN

El papel del núcleo basalis magnocellularis en una serie de paradigmas de aprendizaje es ampliamente conocido. La destrucción de esta estructura en animales de experimentación tiene como consecuencia severas alteraciones cognoscitivas asociadas a una marcada reducción de la transmisión colinérgica de la corteza cerebral. Dado que la acetilcolina existente en la corteza insular de la rata parece estar involucrada en el aprendizaje de los hábitos alimenticios, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la lesión bilateral del núcleo basalis magnocellularis en la rata sobre el aprendizaje de una tarea de aversión a los sabores y su correlación con los cambios en diversos marcadores colinérgicos de la corteza insular. Se observó que la lesión impidió tanto la adquisición como la retención de la aversión y que produjo una disminución significativa sobre la actividad de colina acetiltransferasa, sobre la liberación de acetilcolina radioactiva y sobre la presencia de fibras positivas para acetilcolinesterasa de la corteza insular. Estos hallazgos sugieren que el núcleo basalis magnocellularis está involucrado en la integración neural de los hábitos alimenticios por medio de una proyección colinérgica hacia la corteza insular.

## ABREVIATURAS EMPLEADAS

CAS	Condicionamiento aversivo a los sabores
CCK	Colesistoquinina
CI	Corteza insular
ChAT	Colina acetiltransferasa
DMH	Núcleo dorsomedial del hipotálamo
LH	Núcleo lateral del hipotálamo
NBM	Núcleo basalis magnocelularis
NT	Neurotensina
NTS	Núcleo del tracto solitario
PBN	Núcleo parabraquial
PVN	Núcleo paraventricular del hipotálamo
SP	Sustancia P
SST	Somatostatina
TH	Tirosina hidroxilasa
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
VMH	Núcleo ventromedial del hipotálamo
VPM	Núcleo ventroposteromedial del tálamo

## **NEUROFISIOLOGIA DE LOS HABITOS ALIMENTICIOS**

Desde una perspectiva histórica, el estudio de los hábitos alimenticios fue contemplado originalmente como el estudio del hambre y de la saciedad. Es decir, anteriormente se consideraba que lo único que tenía que hacer un animal para conservar su balance energético era comer cuando sintiera hambre y dejar de hacerlo al estar saciado. De esta manera, se identificaron estructuras cerebrales responsables de la sensación de la necesidad de comer y de la de estar satisfecho. Sin embargo, esta visión simplista del fenómeno ha sido sustituida gradualmente por una más completa que toma en cuenta aspectos tales como la selección de nutrientes de acuerdo al estado energético del organismo, la evitación de alimentos tóxicos o el cambio programado del peso ideal del individuo para alcanzar un nuevo estado homeostático necesario durante alguna etapa de su ciclo de vida.

El sustrato neural responsable de algunos de estos procesos y las vías nerviosas necesarias para integrar los diferentes tipos de información relacionados en cada caso se conocen actualmente. A lo largo del presente capítulo, se revisarán los paradigmas que sostienen en la actualidad al conocimiento de la neurofisiología de los hábitos alimenticios tanto desde un punto de vista motivacional (hambre y saciedad) como integrativo (selección de nutrientes).

### **Aspectos motivacionales de los hábitos alimenticios**

#### **Hambre y saciedad**

El mantenimiento del peso corporal y del balance energético del organismo requiere de un valor de referencia para ambas



variables y de mecanismos de retroalimentación que permitan corregir las desviaciones de las que es susceptible el sistema. La sensación de hambre es uno de los mecanismos con los que el individuo cuenta para poder corregir desviaciones de los valores ideales de peso y energía o, mejor aún, anticiparse a que éstas sucedan. Dado que la sensación de hambre no puede adjudicarse a algún órgano de los sentidos o parte del cuerpo en particular, se ha clasificado como una "sensación general", al igual que la sed, el cansancio o el apetito sexual (Schmidt, 1989).

El hambre está involucrada en la regulación de la ingesta de alimento de dos maneras. Por un lado, los animales son capaces de adaptarse rápidamente a cambios en su balance energético como producto del clima o de su trabajo (regulación a corto plazo) y, por el otro, son capaces de corregir cualquier alteración producida por cambios prolongados en su dieta (regulación a largo plazo). Ejemplos de éste último se encuentran en animales que han sido forzados a comer en exceso o que han sido privados de alimento durante cierto tiempo. Cuando regresan a condiciones normales, los animales sobrealimentados comen mucho menos mientras que aquéllos que fueron privados aumentan su consumo (Anand, 1961).

A pesar de que la sensación de hambre se localiza intuitivamente en el estómago cuando está vacío y desaparece al llenarlo con alimento dando origen a la saciedad, los mecanismos que subyacen la génesis de la sensación no pueden ser ubicados exclusivamente en el tracto digestivo. Por ejemplo, siempre existe comida en el estómago de un animal, a pesar de lo cual se alimenta

varias veces al día (Armstrong y cols., 1978) e incluso la desnervación o la remoción quirúrgica del estómago no afecta significativamente la necesidad de ingerir alimentos (Andersson, 1972). Alternativamente, se ha propuesto que la concentración de glucosa sanguínea determina el consumo de alimento del individuo. Por ejemplo, se ha observado que ratas cuyo nivel de glucosa en la sangre disminuye de 100 mg/ml hasta 50 mg/ml tras recibir una dosis masiva de insulina incrementan su ingesta (Mrosovsky, 1990). Sin embargo, a esta concentración, la rata muestra signos de daño neurológico (Brandes, 1977) por lo que resultaría un mecanismo adaptativo poco práctico si el animal tuviera que depender de él. Por otro lado, se ha detectado un descenso en la concentración sanguínea de glucosa de tan sólo el 10% en animales de experimentación justo antes del inicio de una comida, aunque éste no parece ser el factor desencadenante de la ingesta (Campfield y cols., 1985).

Estas evidencias sugieren que el hambre no está relacionada estrictamente a la carencia del alimento sino que se anticipa a ella. En este sentido, la ingesta de alimento puede verse como una conducta de carácter anticipatorio que involucra un componente muy importante de aprendizaje y que es más fácilmente explicable invocando mecanismos de anteroalimentación (feedforward), antagónicos a la clásica retroalimentación negativa (Mrosovsky, 1990). Ejemplo de esto se encuentra en que los humanos suelen comer aún cuando no están hambrientos sino cuando ha llegado la hora del día en la que comúnmente ingieren los alimentos. Esta ingesta

predictiva no repone energía consumida con anterioridad sino que anticipa gastos futuros.

La saciedad, por su parte, puede ser dividida en dos tipos: preabsortiva y postabsortiva. Resulta claro que un animal está saciado mucho antes de que los nutrientes contenidos en el alimento hayan llegado al torrente sanguíneo. Por lo tanto, factores sensoriales o mecánicos tales como el olor, el sabor, los movimientos masticatorios y la estimulación de mecanorreceptores presentes en el esófago y en el estómago, son los responsables de la saciedad preabsortiva. Posteriormente, conforme el alimento es digerido y la concentración de nutrientes disponibles aumenta en la sangre, los quimiorreceptores presentes en el sistema nervioso central se encargan de mantener la sensación de saciedad por un tiempo mayor (Schmidt, 1989). Curiosamente, los mecanismos que generan la sensación de saciedad pueden ser, en un principio, los responsables de producir más hambre. Por ejemplo, se ha observado que después de los primeros bocados de alimento, la rata se comporta como si tuviera más hambre, incrementando tanto la frecuencia como el tamaño de los bocados (Wiepkema, 1971). Este fenómeno se ha explicado invocando un proceso de retroalimentación positiva, diferente de la anteroalimentación (Mrosovsky, 1990).

Por último, vale la pena mencionar estados fisiológicos en los que el organismo modifica los valores de referencia citados al principio, con lo que sus mecanismos retroalimentatorios defienden un nuevo nivel adecuado al momento por el que atraviesa el individuo. Por ejemplo, existen aves en las que la incubación de

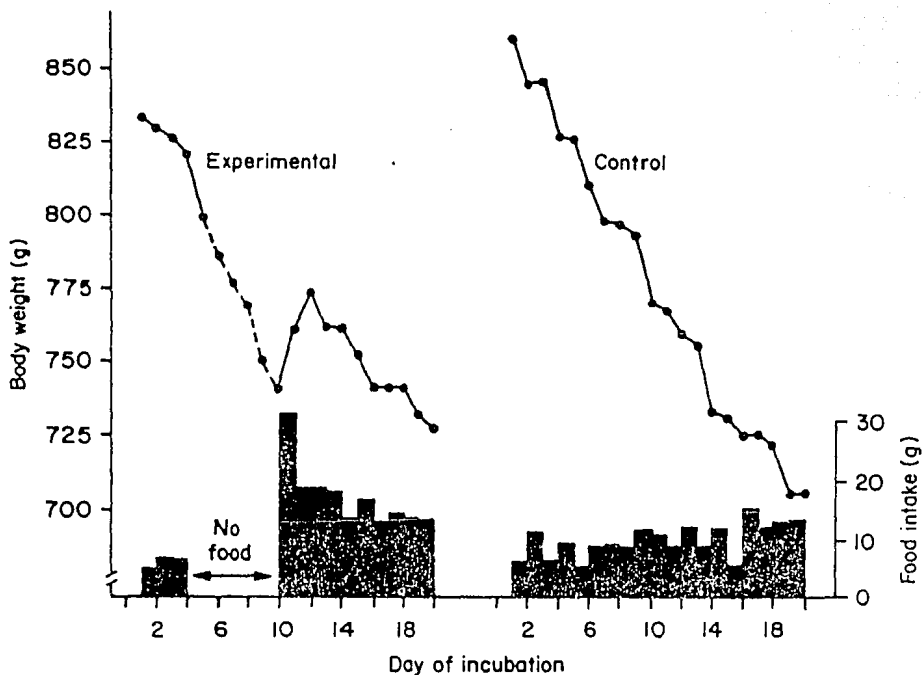


Fig. 1. Peso corporal (líneas) y consumo de alimento (barras) de grupos de faisanes durante el periodo de incubación. La línea punteada muestra el peso durante los días en los que el grupo experimental fue privado de alimento (Adaptado de Mrosovsky y Sherry, 1980).

los huevos corre a cargo de la madre exclusivamente. Por lo tanto, el ave tiene que mantenerse el mayor tiempo posible sobre el nido disminuyendo su posibilidad de buscar alimento. Al cabo de unos días de incubación, la pérdida de peso que experimenta es muy considerable. Si, aunado a este proceso natural, el animal es privado de alimento experimentalmente, la pérdida de peso se incrementa. Al ofrecer de nuevo el alimento, el ave se recupera pero solamente hasta el punto donde se hallan las aves control (que también están incubando y han perdido peso; Fig. 1). Esto indica que el valor de referencia de peso ideal para esa ave se ha movido hacia uno menor, lo que hace que el animal no padezca hambre aún cuando no ha ingerido suficiente alimento (Mrosovsky y Sherry, 1980; Sherry y cols., 1980). Cambios similares se han observado en animales hibernadores (Barnes y Mrosovsky, 1974) y en aves migratorias (Mrosovsky, 1990).

En resumen, hambre y saciedad se relacionan con el estado nutricional del individuo de una manera contraria a la que normalmente se cree pues no tratan de compensar un déficit sino de anticiparse a él. Los mecanismos responsables de ambos procesos tienen un correlato neuroanatómico. A pesar de que las vías neurales que median procesos como la anteroalimentación o la retroalimentación positiva y que juegan un papel tan importante en los hábitos alimenticios son desconocidas, las estructuras cerebrales involucradas en el control del hambre y de la saciedad han sido estudiadas con cierto detalle. A continuación se presentan algunos aspectos de la neuroanatomía de ambos procesos.

### Vías neurales del hambre y de la saciedad

La primera estructura del sistema nervioso central implicada en la génesis del hambre fue el hipotálamo. En una serie de estudios ahora ya clásicos, Hetherington y Ranson (1940) demostraron que la destrucción electrolítica del area ventromedial hipotalámica (VMH) produce hiperfagia y obesidad, definiéndose así como el "centro de la saciedad". Once años después, Anand y Brobeck (1951) encontraron que la lesión del hipotálamo lateral (LH) tiene el efecto contrario, induciendo afaquia y pérdida de peso, constituyéndose en la antítesis de VMH: el "centro del hambre". A partir de entonces, una serie de estudios han corroborado y extendido esas observaciones. Así, se ha demostrado que la estimulación eléctrica de dichas áreas tiene efectos antagónicos a la lesión (Steinbaum y Miller, 1965) y que la actividad de VMH estimula la liberación de glucagon pancreático, mientras que la de LH estimula la de insulina (Frohman y Bernardis, 1971; De Jong y cols., 1977), efectos mediados por los sistemas simpático y parasimpático, respectivamente (Luiten y cols., 1987).

A pesar de que tras el mecanismo que origina estas alteraciones subyace un cambio en el valor de referencia del peso corporal como los mencionados en el apartado anterior (Steinbaum y Miller, 1965), las vías neurales que comunican al hipotálamo con el páncreas han sido estudiadas con sumo detalle y han arrojado un entendimiento considerable de la neuroanatomía del hambre y de la saciedad y su posible relación con el componente integrativo de la ingesta de alimentos.

Aferencias de los núcleos hipotalámicos. Estudios realizados con trazadores de vías neurales han revelado la existencia de dos principales sitios de origen de proyecciones hacia VMH: la amígdala y el hipocampo (Fig. 2; Kita y Oomura, 1982a; Luiten y cols., 1987). El hipocampo posee una conexión directa entre el subículo y VMH y una indirecta mediada por un relevo en el septum. De igual forma, la amígdala central envía una proyección directa a VMH, además de poseer acceso indirecto a través de la estría terminalis. El papel que estas proyecciones juegan en el hambre es oscuro, sin embargo, se ha establecido que ciertas lesiones de la amígdala producen hiperfagia (Lénárd y cols., 1982) y se ha sugerido que el hipocampo puede mediar ciertos aspectos aprendidos de la conducta alimenticia (Luiten y cols., 1987).

Por su parte, el sitio de origen de las proyecciones recibidas por LH es radicalmente diferente al de VMH (Fig. 2). Fundamentalmente, sus aferencias nacen de la corteza prefrontal y de la insular (Kita y Oomura, 1982b; Luiten y cols., 1987). La importancia de estas proyecciones es desconocida pero existen evidencias sólidas de que participan en procesos asociativos de la ingesta de alimentos. Por ejemplo, lesiones de la corteza prefrontal inducen afagia temporal (Luiten y cols., 1987) y su actividad es importante durante el condicionamiento operante cuando se utiliza comida como reforzador (Ono y cols., 1984). Por su parte, la corteza insular es central en la adquisición y en la evocación de aprendizajes de aversión a los alimentos, aspectos que se mencionaran más adelante (Lasiter y Glanzman, 1982, 1985). Vale

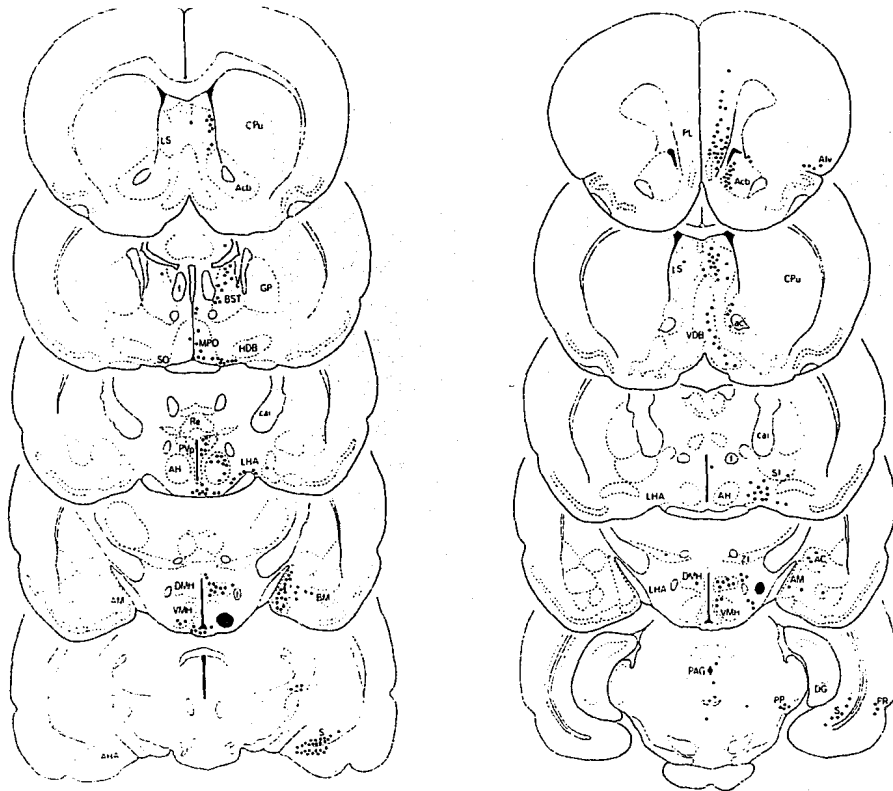


Fig. 2. Secciones coronales del cerebro de la rata donde se muestra la aparición de neuronas marcadas retrógradamente tras la inyección de peroxidasa de rábano en VMH (izquierda) y en LH (derecha). Nótese la abundancia de células marcadas en el subículo (S) y en la amígdala medial (AM) en el primer caso y en las cortezas insular (Aiv) y prefrontal (PL) en el segundo (Tomado de Luiten y cols., 1987).



la pena señalar que la amígdala fue considerada originalmente como una estructura relacionada con el aprendizaje de aversión a los alimentos. Sin embargo, actualmente se conoce que no participa en dicho proceso (Dunn y Everitt, 1988).

Por último, existe una proyección noradrenérgica de los núcleos A1 y A2 hacia LH (Sawchenko y Swanson, 1981), involucrada presumiblemente en la conducta alimenticia, pues se ha observado un aumento en el recambio hipotalámico de noradrenalina asociado a la ingesta (Van der Gugten y Slangen, 1977; Leibowitz, 1978).

Conexiones intrahipotalámicas. Durante mucho tiempo se ha manejado el concepto de "control dual hipotalámico de hambre-saciedad". Lo que este concepto implica es que el hipotálamo no es una estructura que define al hambre y a la saciedad mediante un interruptor de apagado y encendido, sino que actúa como un verdadero centro integrador de la información visceral y la nerviosa. Por lo tanto, la participación de las conexiones intrahipotalámicas resulta importante en la regulación del balance energético. En otras palabras, VMH y LH deben estar interconectados de manera tal que la actividad de uno reduzca la del contrario para poder regular coordinadamente la ingesta de alimento.

Curiosamente, las conexiones recíprocas entre VMH y LH son muy escasas (Luiten y Room, 1980; Kita y Oomura, 1982a, b; Luiten y cols., 1987). Por lo tanto, la integración de la información procedente de ambos núcleos debe ocurrir en algún otro sitio, siendo el núcleo dorsomedial hipotalámico (DMH) uno de los candidatos que más atención ha recibido (Fig. 3). Así, la

existencia de proyecciones de VMH y LH hacia DMH está bien documentada (Luiten y Room, 1980; Kita y Oomura, 1982a; Luiten y cols., 1987) pero el papel de esta área sobre la conducta alimenticia no ha sido entendido aún. Por ejemplo, la estimulación eléctrica de DMH produce un aumento en la concentración de glucosa sanguínea (lo cual reduce el consumo de alimento) sin cambio en el nivel de insulina (Luiten y cols., 1987). Dicho aumento se acompaña de una elevación de la concentración de noradrenalina periférica, posible responsable del fenómeno (Halter y cols., 1984). Por otro lado, Moltz y cols. (1984) encontraron cambios simultaneos en los niveles de insulina y glucagon tras la destrucción de DMH. Todas estas alteraciones en la ingesta de alimento tras la manipulación de DMH han sido explicadas invocando cambios neuroendócrinos. Sin embargo, las conexiones neurales de esta estructura están en una posición ideal para ser el centro integrador del hambre y la saciedad. Así, DMH proyecta recíprocamente a LH y VMH (Luiten y cols., 1987), constituyéndo un sustrato anatómico para la intercomunicación entre los dos últimos. Más aún, DMH envía fibras a la región parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN; Sawchenko y Swanson, 1983; Luiten y cols., 1987), sitio principal de comunicación entre el hipotálamo y el eje neuroendócrino, capaz de regular la secreción de hormonas hipofisiarias involucradas en la conducta alimenticia como la adrenocorticotropina (Dallman, 1984). Por último, DMH posee una conexión recíproca con el órgano subfornical y con el órgano vasculoso de la lámina terminal, estructuras con una barrera

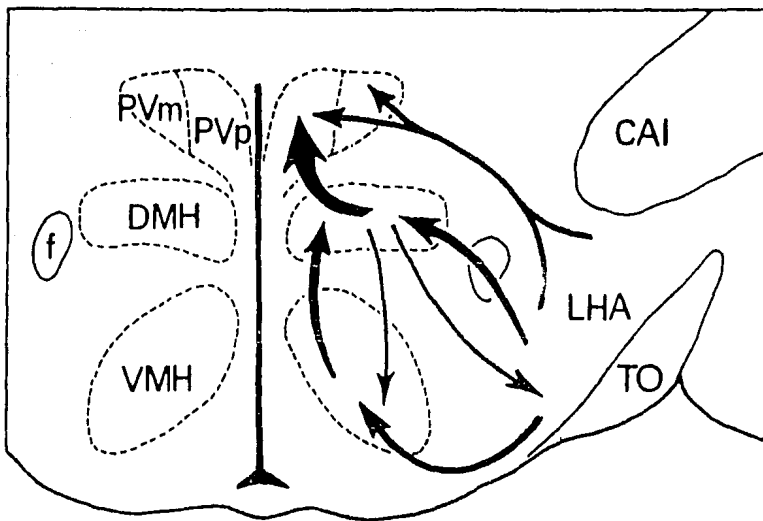


Fig. 3. Conexiones entre los núcleos hipotalámicos relacionados con la conducta alimenticia. Detalles en el texto. Abreviaturas: PVm y PVp, regiones magno y parvocelular del núcleo paraventricular hipotalámico; DMH, núcleo dorsomedial; LHA, núcleo lateral; VMH, núcleo ventromedial; f, fornix; CAI, cápsula interna; TO, tracto óptico. El grosor de las flechas indica la intensidad de la proyección (Tomado de Luiten y cols., 1987).

hematoencefálica débil (Luiten y cols., 1987). Esta conexión implica a DMH en el procesamiento de la información de factores que viajan por vía sanguínea y que pueden modificar la ingesta de alimento (como la glucosa y la insulina, por ejemplo). De esta manera, DMH guarda una posición privilegiada dentro del sistema de integración de la conducta alimenticia.

Eferencias de los núcleos hipotalámicos. A pesar de que la vía DMH-PVN ofrece múltiples posibilidades para la regulación de las glándulas endócrinas involucradas en la conducta alimenticia (páncreas, hígado, tiroides, etc.), existen también conexiones neurales específicas entre éstas y los núcleos hipotalámicos mencionados arriba, mediadas básicamente por los sistemas simpático y parasimpático. Mediante el uso de trazadores anterógrados de vías neurales, se ha demostrado comunicación directa o a través de relevos entre VMH, LH, DMH e incluso PVN y el sistema nervioso autónomo.

En el caso de VMH, la mayoría de sus células de proyección envían sus axones a una región mesencefálica conocida como sustancia gris periacueductal (Saper y cols., 1976; Krieger y cols., 1979; Luiten y cols., 1987). De esta estructura, se origina una proyección hacia la formación reticular ventromedial (Luiten y cols., 1987). Por último, las neuronas de esta zona están conectadas con las columnas intermediomedial e intermediolateral de la médula espinal al nivel torácico (área 10 de Rexed; Luiten y cols., 1987), región en la que se ubican las células parasimpáticas que inervan al páncreas endócrino (Fig. 4).

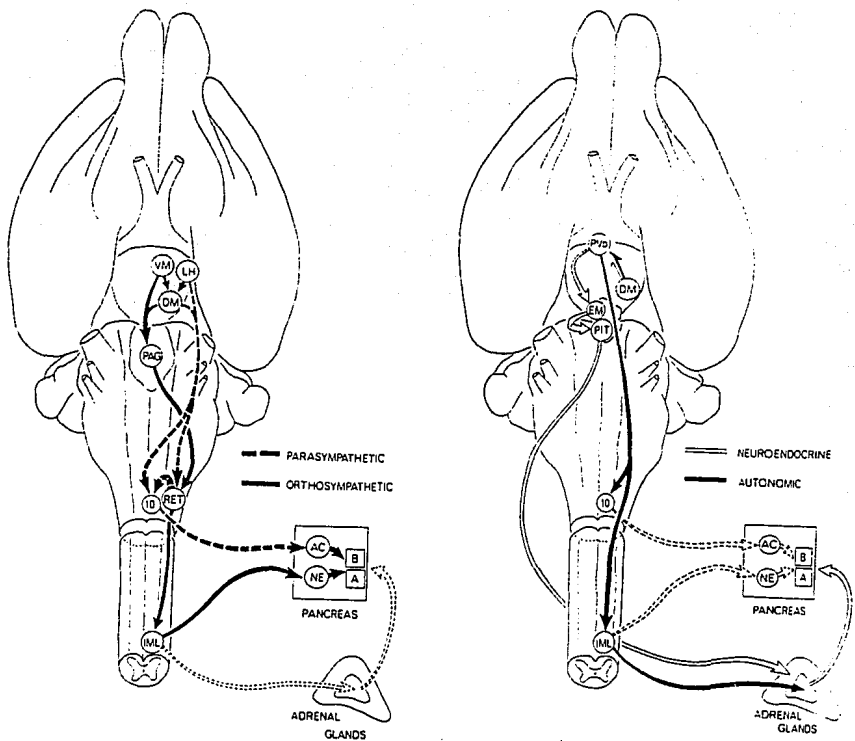


Fig. 4. Vías descendentes de VMH, LH y DMH (izquierda) y de PVp (derecha) hacia los sistemas nervioso autónomo y endócrino. Detalles en el texto. Abreviaturas: VM, núcleo ventromedial; LH, núcleo lateral; DM, núcleo dorsomedial; PVp, núcleo paraventricular; IML, columna intermediolateral; RET, formación reticular ventromedial; PAG, sustancia gris periacueductal; 10, núcleo motor del vago; EM, eminencia media; PIT, hipófisis; AC, acetilcolina; NE, noradrenalina (Tomado de Luiten y cols., 1987).

Por su parte, y en contraste con la complejidad de la vía VMH-médula espinal, LH envía proyecciones directas a los núcleos ambiguo y motor del vago (Luiten y cols., 1987), estructuras ricas en neuronas parasimpáticas que envían fibras al páncreas (Fig. 4).

El hecho de que la liberación de glucagon mediada por la estimulación de VMH mencionada con anterioridad sea bloqueada por el antagonista simpático hexametonio (Berthoud y Jeanrenaud, 1979; Stephens, 1981), mientras que la de insulina mediada por LH es bloqueada por el anticolinérgico atropina (Steffens, 1981), sugieren que los dos circuitos neuronales mencionados están implicados directamente en la regulación de la actividad del páncreas endócrino.

Con respecto a DMH y PVN, además de las conexiones intrahipotalámicas del primero y de la relación con la hipófisis del segundo, ambos núcleos poseen también proyecciones descendentes (Fig. 4). Para DMH, éstas son muy similares a las de LH (Luiten y cols., 1987). Por lo tanto, es de esperarse que la regulación que ejerce sobre la función del páncreas sea de naturaleza parasimpática. Sin embargo, no se puede concluir que esta sea su única forma de influir sobre la actividad de la glándula, pues además de aumentar la liberación de insulina, al igual que LH, tiene efecto sobre la de glucagon, lo que sugiere algún posible mecanismo neuroendócrino de regulación (Halter y cols., 1984). Las eferencias de PVN, por su parte, comparten los mismos relevos que VMH y LH en su camino a la médula espinal (Luiten y cols., 1987), modulando tanto la actividad de células simpáticas (utilizando

oxitocina como transmisor; Swanson y McKellar, 1979) como parasimpáticas (utilizando vasopresina; Buijs, 1978).

Retroalimentación endócrina hacia el hipotálamo. De manera complementaria al control que ejerce el hipotálamo sobre el páncreas, las hormonas producidas por éste son capaces de regular la actividad del sistema nervioso central a diferentes niveles mediante interacciones neuroendócrinas que tienen como resultado final un control más estrecho de las sensaciones de hambre y saciedad. Así, a pesar de no sintetizar insulina, el sistema nervioso central es rico en receptores para esta hormona (Baskin y cols., 1987). Además, la insulina circulante es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (Steffens y cols., 1988, 1990), lo que le permite interactuar potencialmente con los receptores mencionados. Más aún, la inyección de insulina en el ventrículo del perro (Chen y cols., 1975) y dentro del VMH de la rata (Iguchi y cols., 1981) produce hipoglicemia, la cual se acompaña de un aumento en la liberación de insulina pancreática, así como de una reducción en la ingesta de alimento (Woods y cols., 1979). Estas y otras evidencias (Steffens y cols., 1990) indican que los núcleos hipotalámicos involucrados en el control del hambre y de la saciedad están regulados por la actividad del páncreas constituyendo un asa de control análoga al eje hipotálamo-hipófisis-glándulas.

En resumen, la regulación del hambre y de la saciedad y su efecto sobre el balance energético y el peso corporal del organismo está controlado de manera importante por el sistema nervioso

central, principalmente por el hipotálamo. La serie de aferencias que reciben VMH, LH, DMH y PVN con el resto del encéfalo sugieren la posible participación de dichos núcleos con procesos más integrativos de los hábitos alimenticios. En la siguiente sección se revisan los conceptos más importantes sobre este tipo de procesos.

### **Aspectos integrativos de los hábitos alimenticios**

#### **El condicionamiento aversivo a los sabores**

Como se mencionó en un principio, el conocimiento del valor nutricional o de la toxicidad de un alimento particular es de suma importancia durante la vida de los organismos. Si un individuo se valiera solamente de aspectos motivacionales como los revisados en la sección anterior para la selección diaria de sus alimentos, dejando de lado la evaluación de las características físicas de su comida y su relación con su valor nutricional o tóxico, dicho individuo se coloca en desventaja frente a otro que sea capaz de distinguir entre unos y otros. De esta manera, las especies necesitan mecanismos de defensa, tales como el vómito, para evitar el daño producido por la ingesta de plantas o animales tóxicos (Borison y Wang, 1953), así como estrategias que les permitan evaluar las cualidades nutritivas de su ingesta cotidiana (Ellins y cols., 1977).

De igual manera, la actitud que un organismo adquiere ante determinado alimento depende en gran parte de su experiencia previa con el mismo. Así, al degustar los primeros bocados de su comida, el animal puede ingerir pequeñas cantidades si se trata de un



alimento novedoso con el fin de anticiparse a posibles consecuencias negativas de su consumo (neofobia; Domjan, 1975); incrementar su ingesta, en el caso de que este alimento hubiera resultado previamente benéfico (preferencia; Booth, 1985), o evitarlo si le produjo malestar en un encuentro anterior (aversión; Bermúdez-Rattoni, 1986). Esta serie de procesos requieren de la integración de diferentes tipos de información y de su subsecuente evocación. De esta manera, una de las principales estrategias que los organismos poseen para anticipar los efectos de una ingesta específica modificando sus hábitos alimenticios es el aprendizaje.

Por ejemplo, en la neofobia, el papel del aprendizaje es relevante, pues el proceso supone la comparación del sabor del alimento novedoso con otros a los que el animal ha sido expuesto a lo largo de su historia (Domjan, 1975). Igualmente, una serie de experimentos han demostrado que animales con deficiencias nutricionales severas, son capaces de corregirlas seleccionando aquellos alimentos que poseen el nutriente particular del que carezcan (Booth, 1985). Particularmente bien documentado es el caso del "hambre específica de sal", en la que animales privados de sal son capaces de escoger aquellos alimentos que compensen la deficiencia de acuerdo con su experiencia pasada, adquirida bajo circunstancias en las que no había déficit (Kriekhaus y Wolf, 1968).

Sin embargo, el paradigma que ha guiado la investigación sobre el aprendizaje de los hábitos alimenticios es el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS; García y Koelling, 1966; García y

cols., 1985). En este caso, tras ingerir un alimento que provoque malestar gástrico y náusea, el individuo es capaz de asociar su sabor con el daño que ha recibido, lo que conduce al rechazo del alimento en subsecuentes encuentros. Evidentemente, se trata de un proceso de aprendizaje asociativo que, sin embargo, no puede ser ubicado con precisión dentro de los esquemas que definen a los condicionamientos clásico y operante (García y Koelling, 1966; García y cols., 1966, 1985). Una de las características que establecen la diferencia entre el CAS y el resto de los paradigmas de aprendizaje asociativo es el lapso que separa a la presentación del estímulo gustativo (estímulo condicionado) de la aparición del malestar (estímulo incondicionado). Mientras que en el común de los ejemplos de condicionamiento clásico, ambos estímulos deben estar contiguos en el tiempo, en el CAS pueden estar separados por varias horas (Fig. 5; Chambers, 1990). De igual manera, basta una sola vez que el sabor se asocie a la náusea para producir una aversión muy duradera, mientras que en el resto de los modelos se necesitan varios apareamientos entre los estímulos para lograr una adquisición significativa (Chambers, 1990).

Sin embargo, el verdadero impacto de la descripción de este modelo fue que alteró radicalmente las ideas imperantes sobre la capacidad de aprender de los organismos. Anteriormente se aceptaba que toda respuesta podía ser condicionada a cualquier estímulo dada una cantidad suficiente de entrenamientos, concepto que García y Koelling (1966) pusieron en tela de juicio. Estos investigadores realizaron experimentos en los cuales expusieron a diferentes

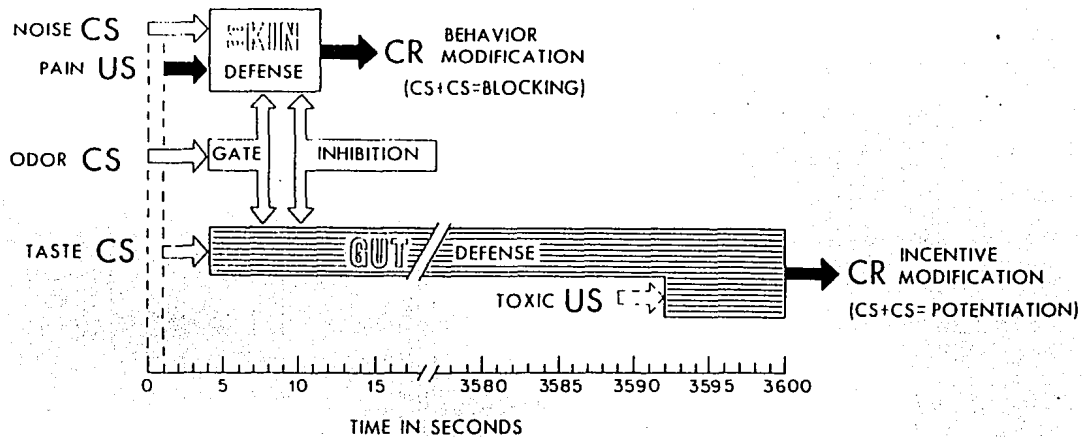


Fig. 5. Representación diagramática de los sistemas de defensa exteroceptivo e interoceptivo ilustrando la asociación selectiva de los estímulos y la diferencia en tiempo entre la presentación del condicionado y el incondicionado, como se explica en el texto. Nótese que el olor puede pertenecer al sistema exteroceptivo cuando adopta las propiedades funcionales de un sonido o al interoceptivo cuando adopta las de un gusto (Tomado de García y cols., 1985).

grupos de ratas a uno de dos distintos estímulos condicionados: uno gustativo (el sabor del líquido en un bebedero) o uno auditivo (un tono que se producía cuando el animal tomaba del bebedero). Inmediatamente después, aparearon los dos estímulos con náusea inducida con rayos X (estímulo incondicionado). Cuando presentaron nuevamente el estímulo correspondiente a cada grupo de ratas, encontraron que sólo los animales que habían recibido el estímulo gustativo habían desarrollado aversión (respuesta condicionada), mientras que los que recibieron el tono como estímulo condicionado ingirieron considerables cantidades del líquido. Del mismo modo, realizaron otra serie de experimentos en los cuales presentaron los mismos estímulos condicionados asociándolos esta vez con otro estímulo incondicionado: un choque eléctrico. En este caso, los animales desarrollaron aversión al tono y no al sabor (Fig. 5).

Basados en estos experimentos, concluyeron que las especies han generado mecanismos que les permiten asociar las consecuencias internas de su ingesta con el gusto y no con otras modalidades sensoriales. Del mismo modo, los animales establecen relaciones entre estímulos audiovisuales con características del medio externo como el choque eléctrico. En otras palabras, existen al menos dos sistemas de defensa del organismo, los cuales funcionan independientemente uno del otro y que han evolucionado a las presiones de selección inherentes a una cadena alimenticia (García y cols., 1985). Por un lado, protegen su exterior del ataque de depredadores asociando agresiones externas con estímulos audiovisuales, y protegen su medio interno de sustancias nocivas,

asociando sabores con malestar gástrico. Curiosamente, el olor puede pertenecer a cualquiera de los dos sistemas, pero una vez que se ha asociado con el interno no puede relacionarse con el externo y viceversa. Es decir, el olor funciona como una compuerta que puede abrirse hacia uno de los dos sistemas y cerrarse al otro (Fig. 5; Rusiniak y cols, 1982; García y cols., 1985).

Dado que el CAS es una conducta aprendida, el proceso involucra la convergencia de información gustativa con información visceral. Por lo tanto, si se está interesado en conocer la fisiología del CAS, es necesario establecer las vías neurales que transmiten los diferentes tipos de información y su sitio de convergencia. A pesar de que el CAS fue descrito hace apenas un cuarto de siglo, los circuitos responsables de su existencia se conocen con un detalle mayor al de la mayoría de los modelos existentes tanto a nivel neuroanatómico como neuroquímico. A continuación se describen las vías constituyentes del CAS en un intento por profundizar en la comprensión del modelo.

#### Vías neurales del CAS

Como se mencionó con anterioridad, la determinación de los sustratos neurales del CAS requiere la identificación de las diferentes vías que conducen la información, es decir, la vía del gusto, la de la náusea, su sitio de integración y la vía de la respuesta aversiva. A este respecto, vale la pena resaltar otra diferencia entre el condicionamiento clásico y el CAS. En el primero, la respuesta condicionada es muy similar a la incondicionada (por ejemplo, la salivación del perro en los

experimentos clásicos de Pavlov); en el CAS, la respuesta es totalmente antagónica, pues antes del entrenamiento el animal ingiere el alimento y después lo rechaza, pues se modifica el valor hedónico del gusto condicionado (Chambers, 1990). De esta manera, debe definirse también la vía que media las respuestas hedónicas hacia los sabores, última responsable de la aversión (Fig. 6).

Vía del gusto. A pesar de que algunas especies no utilizan el gusto como estímulo condicionado en la aversión a algún alimento, sino otras modalidades sensoriales como la vista (Gaston, 1977; Brower y Fink, 1985), la principal característica que permite a los organismos identificar su comida es su sabor. Por medio de técnicas neuroanatómicas y electrofisiológicas, se ha definido el camino que sigue un estímulo gustativo en su camino al encéfalo (Kiefer, 1985; Travers y cols., 1987).

Las primeras estructuras que se ponen en juego son las papilas gustativas de la cavidad oral. Estos receptores se encuentran principalmente en la lengua y están compuestos por células epiteliales modificadas las cuales están inervadas por fibras aferentes de la chorda tympani y el nervio petroso superficial (ramas del nervio facial), y la rama lingual del nervio glosofaríngeo (Kiefer, 1985; Travers y cols., 1987). Contrariamente a lo que se cree, sólo el 17% de las células receptoras responden selectivamente a uno de los cuatro sabores estándar usados en los estudios sobre el gusto: dulce, salado, agrio y amargo (Ozeki y Sato, 1972; Sato y Beidler, 1982). Es decir, la mayoría de las células responden a dos o más de los estímulos exhibiendo una

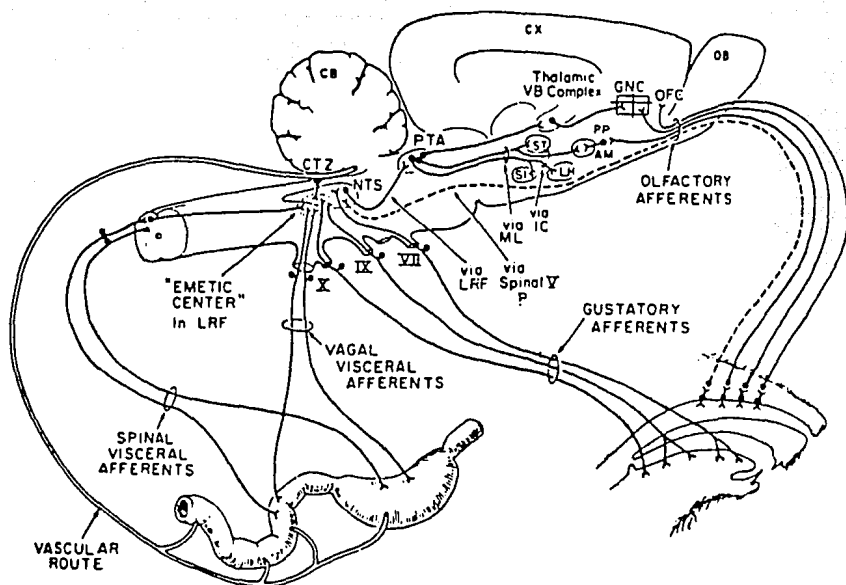


Fig. 6. Vías neurales implicadas durante el CAS. Abreviaturas: AM, amígdala; CB, cerebelo; CTZ, área postrema; CX, corteza cerebral; GNC, corteza insular; IC, cápsula interna; LH, hipotálamo lateral; LRF, formación reticular lateral; ML, lemnisco medio; NTS, núcleo del tracto solitario; OB, bulbo olfatorio; OFC, corteza orbitofrontal; PP, corteza prepiriforme; PTA, núcleo parabraquial; SI, núcleo basalis magnocelularis; ST, subtálamo; VB, núcleo ventroposteromedial del tálamo (Tomado de Kiefer, 1985).

preferencia marginal por alguno de ellos. Dado que ciertos estímulos son capaces de despolarizar a las células receptoras mientras que otros pueden hiperpolarizarlas, la probabilidad de que se genere un potencial de acción en el nervio depende de la suma del efecto de los diferentes estímulos (Sato y Beidler, 1983).

Por medio de técnicas inmunocitoquímicas, se ha establecido que una población de los nervios aferentes gustativos poseen una variedad de péptidos (Mantyh y Hunt, 1984) tales como la colecistoquinina (CCK), la somatostatina (SST), la sustancia P (SP) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP), además de la tirosina hidroxilasa (TH), enzima involucrada en la síntesis de catecolaminas. Las terminales de estas fibras establecen sinapsis ipsilateralmente en el núcleo del tracto solitario (NTS), primer relevo central de la vía gustativa (Kiefer, 1985; Travers y cols., 1987).

Las respuestas a estímulos gustativos en el NTS son aún más generales que las observadas en las células receptoras, lo que sugiere la presencia de neuronas de segundo orden encargadas de la integración de los diferentes tipos de sabores presentes en determinado alimento (Travers y cols., 1986). Por otro lado, las respuestas gustativas evocadas en el NTS son moduladas por la distensión gástrica (Glenn y Erickson, 1976), por la concentración de glucosa sanguínea (Giza y Scott, 1983) y por el olor (Van Buskirk y Erickson, 1977). Estas observaciones ayudan a explicar el porqué un alimento resulta más sabroso cuando se tiene hambre o desagradable cuando se está saciado, fenómeno conocido como



aliestesia (Cabanac, 1971; Mrosovsky, 1990) y proporciona un sustrato neural para la comunicación entre los componentes afectivo e integrativo de la conducta alimenticia.

Adicionalmente, el NTS recibe una serie de proyecciones centrales que pueden tener un papel en la modulación de la percepción del sabor, tales como la corteza cerebral, la amígdala y, particularmente, el hipotálamo (van der Kooy y cols., 1984). Por ejemplo, la estimulación del hipotálamo lateral puede facilitar o inhibir la respuesta producida por la estimulación gustativa de la lengua (Matsuo y cols., 1984).

En lo que respecta a las eferencias del NTS, existe una diferencia entre los roedores y los primates (Travers y cols., 1987; Chambers, 1990). En los primeros, existe un relevo en una estructura del puente denominada núcleo parabraquial (PBN) o área pontina del gusto, mientras que en los segundos, la principal proyección es hacia el núcleo ventroposteromedial del tálamo. Curiosamente, se ha determinado que sólo el 21% de las neuronas sensibles al gusto en el NTS proyectan hacia PBN en el roedor (Ogawa y Kaisaku, 1982), y se ha encontrado que, en la rata, esas fibras ascendentes contienen CCK, SP, SST, neurotensina (NT) y encefalinas (Mantyh y Hunt, 1984).

A diferencia de la organización rostrocaudal de las neuronas gustativas de NTS, las de PBN parecen estar organizadas a lo largo de un eje dorsoventral (Travers y cols., 1987). Sin embargo, responden al gusto de manera muy similar a la de aquéllas, es decir, mostrando una baja selectividad por estímulos gustativos

específicos. A pesar de ser una estructura muy pequeña, PBN está compuesto por una población heterogénea de células que, en su mayoría, son neuronas de proyección ascendente y que presentan una organización topográfica sumamente compleja (Fulwiler y Saper, 1984). Por ejemplo, se ha establecido que las proyecciones gustativas del tercio rostral de NTS envían fibras hacia la porción medial de PBN (Norgren y Leonard, 1973), mientras que la información visceral de su región caudal es recibida por el segmento lateral de éste (Norgren, 1978). Por otro lado, PBN establece conexiones recíprocas con LH y con VMH (Berk y Finkelstein, 1982; Fulwiler y Saper, 1984; Travers y cols., 1987) y con la corteza insular (Shiple y Sanders, 1982; Fulwiler y Saper, 1984), estructuras que, como ya se ha mencionado, juegan un papel importante en la integración de los hábitos alimenticios. Igualmente, PBN envía una gran cantidad de fibras inmunopositivas para CCK, NT, SST, TH y SP hacia el núcleo ventroposteromedial talámico (Fulwiler y Saper, 1984; Mantyh y Hunt, 1984). Por último, pero de gran importancia para el presente trabajo, se ha documentado la existencia de una proyección de PBN hacia el núcleo basalis magnocelularis (Fulwiler y Saper, 1984), aunque se desconoce la naturaleza de la información que transmite.

Vía de la náusea. La ingesta de toda sustancia capaz de producir náusea desata el reflejo emético, es decir, el vómito. El centro emético, la estructura encefálica responsable de la ocurrencia de este reflejo se encuentra en el tallo cerebral, formando parte de la formación reticular lateral. De acuerdo con

Borison y Wang (1953), existen básicamente dos maneras en las que se puede desencadenar este reflejo, y, por lo tanto, dos rutas alternas por las que la información visceral puede ser recibida por el sistema nervioso central: la vía sanguínea y la vía neural.

En el primer caso, la toxina viaja por el torrente sanguíneo hasta ponerse en contacto con una región del piso del cuarto ventrículo que carece de barrera hematoencefálica: el área postrema (Kiefer, 1985; Chambers, 1990). Células de esta estructura transmiten la información al centro emético disparando el vómito. Alternativamente, la presencia de una sustancia irritante en el tracto digestivo puede activar a las ramas sensoriales del nervio vago, las cuales tienen su terminación en la región caudal de NTS. Dada la cercanía entre esta estructura y el centro emético, se ha propuesto un flujo de información entre ambas regiones de tal manera que la activación de NTS también desata el vómito (Kiefer, 1985; Chambers, 1990).

A partir de este punto, la vía de la náusea comparte los mismos relevos que la del gusto, pues, como se mencionó en la sección anterior, las células que reciben la información visceral en el NTS también proyectan hacia PBN, proporcionando un posible sustrato para la convergencia entre la información gustativa y visceral, como se discutirá más adelante. Más aún, se ha reportado también una proyección desde el área postrema hacia la región lateral de PBN, cuya función es desconocida (Shapiro y Miselis, 1982; Fulwiler y Saper, 1984).

Vía de la respuesta aversiva. Las respuestas hedónicas hacia

un gusto determinado no dependen de áreas rostrales a PBN (Grill y Norgren, 1978a; Grill, 1985; Chambers, 1990). Se ha demostrado que animales decerebrados supracolicularmente son capaces de mostrar los patrones de conducta característicos de animales normales cuando reciben un estímulo gustativo. Por ejemplo, si se coloca una solución de glucosa directamente sobre la lengua de los animales decerebrados, se desata una serie de conductas que tienen como fin la ingesta del líquido: mueven de manera rítmica el hocico, lengüetean y lamen sus patas; por el contrario, si se coloca una solución de quinina, el animal trata de expulsarla abriendo su hocico, frotándolo contra el suelo o con sus patas y sacudiendo la cabeza (Grill, 1985). Por otra parte, se ha demostrado que ciertas neuronas de PBN envían axones al núcleo motor oral de la rata (Travers y Norgren, 1983) y que estas células son capaces de responder a estímulos gustativos (Schwartzbaum, 1983).

De esta manera, tanto los aspectos sensoriales como los motores relacionados con la ingesta de alimento parecen estar organizados exclusivamente en el tallo cerebral, lo que sugiere que las estructuras telencefálicas funcionan sólo como moduladores de las conductas generadas a niveles subcorticales (Chambers, 1990).

Vale la pena notar que la respuesta conductual aversiva que se induce con sabores amargos es similar a la que se presenta cuando un estímulo gustativo ha sido asociado con malestar gástrico. Coincidentalmente, el patrón de descarga en NTS generado por el sabor antes de la asociación se vuelve muy similar al producido

espontáneamente por sabores amargos (Chang y Scott, 1984). Estos hallazgos sugieren que el valor hedónico del gusto se modifica a nivel del tallo cerebral.

Sitios de integración. El hecho de que tanto la vía del gusto como la de la náusea compartan los mismos relevos desde su entrada al sistema nervioso central sugiere que la integración de la información, es decir, el aprendizaje, se lleva a cabo en estructuras tales como NTS y PBN. Incluso se ha reportado que más del 60% de las neuronas activadas por el gusto en PBN responden también a la estimulación del nervio vago (Hermann y Rogers, 1985). Sin embargo, animales decerebrados como los descritos en la sección anterior no pueden ser entrenados en modelos de CAS (Grill y Norgren, 1978b; Grill, 1985; Kiefer, 1985). Más aún, la lesión de PBN no afecta la adquisición del CAS cuando el malestar gástrico se produce inmediatamente después de la presentación del estímulo gustativo (Di Lorenzo, 1988). Estos datos indican que las estructuras neurales que reciben proyecciones de NTS y PBN son las verdaderas responsables del proceso de aprendizaje.

Como se mencionó con anterioridad, PBN envía proyecciones ascendentes hacia una serie de núcleos que incluyen al núcleo basalis magnocelularis, a la corteza insular y, principalmente, al núcleo ventroposteromedial del tálamo (VPM). La existencia de un relevo talámico a lo largo de la vía no es sorprendente, pues todas las vías sensoriales en su camino a la corteza pasan a través del tálamo, excepto la olfativa. Por otra parte, las proyecciones del área pontina al núcleo basalis no han sido caracterizadas ni

fisiológica ni neuroquímicamente. Por último, las células que proyectan directamente de PBN a la corteza insular son muy escasas, lo que ha hecho muy difícil la evaluación de su participación en el CAS.

La estrategia más utilizada en los estudios tendientes a definir los sitios responsables de la asociación gusto-malestar ha sido la lesión selectiva de las estructuras presumiblemente involucradas y evaluar el efecto que este tratamiento produce sobre la aversión. De esta manera, se ha demostrado que la destrucción de VPM en la rata impide la adquisición del CAS (Loullis y cols., 1978; Lasiter, 1985), mismo efecto que se obtiene al lesionar la proyección de VPM hacia la corteza insular (Lasiter y cols., 1985). Sin embargo, parece que el papel de VPM en el CAS no es propiamente integrativo, sino que participa como un simple relevo. Evidencia en apoyo de esta proposición se encuentra en experimentos en los que no se ha establecido una correlación positiva entre la actividad eléctrica de las células de VPM y la adquisición del CAS (Aleksanyan y cols., 1976).

Más del 90% de las proyecciones gustativas de VPM establecen contacto con una región muy específica de la corteza temporal donde convergen el surco rinal y la arteria cerebral media: la corteza insular (CI). Esta región, que también ha sido denominada neocorteza gustativa, forma parte de la neocorteza de asociación en los mamíferos (áreas 13 y 14 de Krieg) y es el relevo gustativo que más atención ha recibido desde el punto de vista neuroanatómico (Braun y cols., 1982; Kosar y cols., 1986a, b), neurofisiológico

(Yamamoto y Kawamura, 1977) y neuroquímico (Mantyh y Hunt, 1984; López-García y cols., 1990a).

El papel que la CI juega en el CAS ha sido ampliamente documentado. Se ha demostrado en repetidas ocasiones que lesiones de esta estructura provocan severas deficiencias en el aprendizaje del CAS (Braun y cols., 1972, 1981; Yamamoto y cols., 1981; Lasiter y Glanzman, 1982, 1985; Grill, 1985; Kiefer, 1985). Paradójicamente, aún existe controversia respecto a su papel exacto en el proceso. Así, se ha propuesto que la integridad de la CI no es indispensable para la adquisición del CAS (Braun y cols., 1972; Lasiter y Glanzman, 1982; Chambers, 1990), pero sí para la retención de una aversión previamente aprendida (Braun y cols., 1981; Yamamoto y cols., 1981). Por otro lado, Lorden (1976) ha observado que la lesión de la CI sólo impide la adquisición del CAS cuando la presentación del sabor y la inducción de la irritación gástrica están separadas en el tiempo, mientras que no tiene efecto cuando los dos estímulos se presentan conjuntamente. Esto sugiere la existencia de vías diferentes para el establecimiento del CAS, dependiendo del intervalo entre los estímulos asociados (Chambers, 1990).

Sin embargo, el papel de la CI en la adquisición del CAS se ha visto sustancialmente apoyado por estudios que demuestran que ratas lesionadas en la CI son capaces de aprender una aversión sólo cuando reciben un trasplante de CI fetal en el sitio de la lesión (Bermúdez-Rattoni y cols., 1987, Yirmiya y cols., 1988). Más aún, se ha reportado que el trasplante es capaz de restablecer

conexiones con el tálamo del cerebro hospedero (Escobar y cols., 1989) y que la recuperación conductual sigue un curso temporal que se correlaciona con la aparición de dichas conexiones (Fernández-Ruiz y cols., 1991) y con la actividad colinérgica del tejido transplantado (López-García y cols., 1990b), lo que sugiere que la transmisión colinérgica de la CI en el animal adulto participa normalmente en el aprendizaje del CAS (López-García y cols., 1990a, b).

En resumen, la búsqueda del sitio de integración entre el estímulo gustativo y el visceral aún no ha llegado a su fin, aunque la CI es el candidato más sólido para constituirse como tal.

Como puede apreciarse, la integración neural de los hábitos alimenticios es un proceso muy complejo que involucra una gran cantidad de estructuras encefálicas. Aún cuando en el presente trabajo se ha propuesto que existen aspectos motivacionales e integrativos que definen al proceso, resulta claro que esta división es artificial. Una comprensión global de la conducta alimenticia requiere el estudio de la modulación recíproca entre el sistema neural que subyace al hambre y el que media la selección del alimento. A lo largo del texto se han mencionado diversos puntos de contacto entre ambos sistemas desde el punto de vista anatómico, de los cuales se desconoce casi totalmente el funcionamiento. Más aún, el conocimiento de los grupos neuronales que constituyen a cada una de las vías es incompleto. Por ejemplo, la proyección de PBN hacia el núcleo basalis magnocellularis puede mediar algún aspecto de la conducta alimenticia, sin embargo, nadie



ha experimentado en este sentido.

Dado que el objetivo de este trabajo es explorar la posibilidad de que el núcleo basalis magnocelularis esté involucrado en la integración de los hábitos alimenticios, a lo largo del siguiente capítulo se revisarán los conceptos más relevantes sobre su funcionamiento para entender mejor su posible participación en el proceso.

## **EL NUCLEO BASALIS MAGNOCELULARIS**

El interés en el estudio del núcleo basal magnocelularis (NBM) ha cobrado una fuerza excepcional durante los últimos años. A partir de los primeros estudios que demostraron una disminución en diversos marcadores colinérgicos corticales en pacientes con enfermedad de Alzheimer (Bartus y cols., 1982; Coyle y cols., 1983), concomitante a la degeneración de las células colinérgicas del NBM (Davies y Maloney, 1976; Whitehouse y cols., 1982), una gran cantidad de grupos ha estudiado su neurofisiología con el fin de entender mejor su papel en procesos cognoscitivos y de desarrollar tratamientos más efectivos en contra de dicho padecimiento.

A lo largo de esta sección, se revisará el conocimiento actual sobre la anatomía y la función del NBM y su participación en procesos de aprendizaje y memoria, para después discutir la posibilidad de que esté involucrado en la integración neural de los hábitos alimenticios, particularmente en el CAS.

### **Neuroanatomía de los sistemas colinérgicos**

La distribución de las células colinérgicas del sistema nervioso central y la organización de sus proyecciones ha sido estudiada con sumo detalle (Johnston y cols., 1979; Lehmann y cols., 1980; Bigl y cols., 1982; Mesulam y cols., 1983a, b).

Utilizando trazadores de vías neurales y técnicas inmunocitoquímicas e histoquímicas, se ha demostrado que la inervación colinérgica de la mayor parte del encéfalo de diferentes especies, incluyendo al humano, tiene su origen en una serie de

estructuras telencefálicas que se denominan en conjunto cerebro anterior basal. Dentro del cerebro anterior basal se han definido cuatro grupos diferentes de células colinérgicas, denominados Ch1-Ch4 (Mesulam y cols., 1983a), entre los que se encuentra el NBM y que son responsables del abastecimiento colinérgico de estructuras tales como la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala y el bulbo olfatorio. Adicionalmente, existen otros dos grupos de células colinérgicas en el mesencéfalo (Ch5-Ch6; Mesulam y cols., 1983b) encargadas de la inervación del diencefalo, en particular de los núcleos talámicos (Fig. 7).

Grupo Ch1 (Septum medial). Este grupo se caracteriza por poseer células pequeñas de forma oval distribuidas a lo largo de las fibras del fornix precomisural. Aproximadamente el 10% de sus células contienen colina acetiltransferasa (ChAT), lo que permite su fácil diferenciación con respecto a las regiones dorsal y lateral del septum. Su principal eferencia es recibida por el hipocampo a través del fornix.

Grupo Ch2 (Rama vertical del núcleo de la banda diagonal). Las neuronas de este núcleo se encuentran ubicadas dorsalmente con respecto al septum y se diferencian de las de éste por ser de mayor tamaño y poseer una forma alargada. Aproximadamente el 70% de las células de esta estructura son colinérgicas y el destino de sus proyecciones es también el hipocampo y ciertas áreas corticales parahipocámpicas.

Grupo Ch3 (Rama horizontal del núcleo de la banda diagonal). Quizá sea éste el grupo colinérgico organizado de la manera más

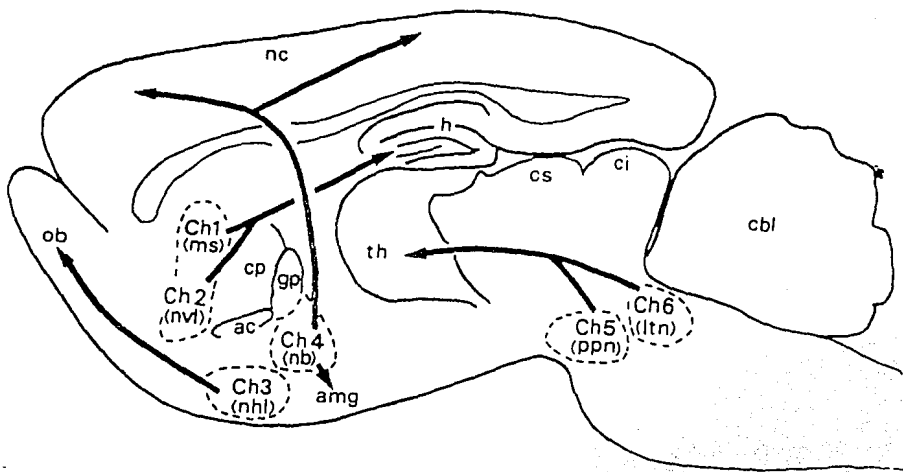


Fig. 7. Organización de los sistemas colinérgicos del encéfalo de la rata. Nótese que el grupo CH4 abastece la mayor parte de la acetilcolina presente en la corteza cerebral (nc) y en la amígdala (amg). El resto de las proyecciones es descrito en el texto (Tomado de Mesulam y cols., 1983b).

difusa pues sus límites se extienden desde el área preóptica hasta la amígdala, dorsalmente a Ch1 y a Ch2. Curiosamente, sólo el 1% de sus células poseen ChAT pero ellas proporcionan la totalidad de la inervación colinérgica del bulbo olfatorio.

Grupo Ch4 (NBM). Como su nombre lo indica, las células de esta estructura son de gran tamaño, lo que simplifica su identificación en preparaciones histológicas. De todos los núcleos colinérgicos del cerebro, el NBM es el más grande y está ubicado en relación anatómica estrecha con el globo pálido. Cerca del 90% de sus células son colinérgicas y, con base en criterios anatómicos, se ha subdividido en tres regiones: anterior, intermedia y posterior.

La región anterior del NBM se encuentra ubicada caudal al tubérculo olfatorio, lateral al grupo Ch2 y al área preóptica, medial al área periamigdalina y dorsal al grupo Ch3. La presencia de una estructura vascular que corre a lo largo de esta región permite su subdivisión en NBM anterolateral (al) y anteromedial (am). NBM<sub>al</sub> inerva a las cortezas del cíngulo y parietal media así como al giro subcalloso, mientras que NBM<sub>am</sub> proyecta a las cortezas lateral, frontal, ventral posterior y parietal, así como a la amígdala.

La región intermedia del NBM se halla caudal al área anterior y se caracteriza por la presencia del ansa peduncularis, grupo de fibras que la subdivide en región intermediodorsal y región intermedioventral. A pesar de ello, las zonas de proyección de ambas subdivisiones son similares, comprendiendo a las áreas corticales orbital ventrolateral, parietal inferior, periarcuata y

parahipocámpica.

Por último, la región posterior constituye el extremo caudal del NBM. Esta región envía sus proyecciones a la región posterior del lóbulo parietal, a la corteza occipital y a las áreas corticales auditivas anterior y posterior.

En resumen, el NBM abastece la acetilcolina de toda la corteza cerebral y de la amígdala de una manera más o menos topográfica, donde la región más anterior del núcleo inerva a las más anteriores de la corteza y su región caudal a las áreas corticales posteriores. Debe reconocerse, sin embargo, la existencia de interneuronas colinérgicas que aportan alrededor del 20% de la acetilcolina cortical (Hebb y cols., 1963; Dunnett y cols., 1987) y de neuronas mesencefálicas que contribuyen con el 10%.

Grupos Ch5 y Ch6 (Formación reticular pontomesencefálica). La formación reticular pontomesencefálica contiene dos grupos bien definidos de neuronas colinérgicas: Ch5, que incluye neuronas de los núcleos pedúnculo pontino, cuneiforme y parabraquial; y Ch6, ubicado dentro de la sustancia gris periacueductal, comprendiendo parte del núcleo tegmental laterodorsal. El campo terminal de las proyecciones de estos núcleos es el tálamo, el cual recibe el 70% de su acetilcolina de estos núcleos. De igual forma, el 10% de la inervación colinérgica de la corteza parece originarse en Ch5 y Ch6.

Cabe aclarar que la existencia de estos núcleos no es fácilmente demostrable en todas las especies. Por ejemplo, mientras que Ch4 presenta su máximo desarrollo y es delimitable sin

dificultad en los primates, incluyendo al humano (Mesulam y cols., 1983a) y en los cetáceos (Gorry, 1963), en los roedores dicha diferenciación no es tan clara. De igual manera, los núcleos Ch5 y Ch6, descritos originalmente en el cerebro de la rata, no han sido identificados en el mono rhesus (Mesulam y cols., 1983b).

Aferencias del NBM. Dado que el NBM se encuentra en una posición única para actuar como relevo entre estructuras subcorticales y la totalidad de la corteza cerebral, es de esperarse que una variedad de estructuras diencefálicas y mesencefálicas le envíen proyecciones. De esta forma, se ha encontrado que tanto la amígdala (Price y Amaral, 1981; Mesulam y Mufson, 1984), como los núcleos peripeduncular y dorsomedial talámico (Jones y cols., 1976) proyectan hacia el NBM. Adicionalmente, la misma corteza cerebral posee conexiones recíprocas con el NBM tanto en la rata (Saper, 1984), como en el mono (Mesulam y Mufson, 1984).

De particular importancia para este trabajo, resultan las fibras procedentes de dos estructuras encefálicas relacionadas con la conducta alimenticia. Por un lado, Saper y cols. (1979) han demostrado la existencia de una vía de VMH al NBM y, por otro, Fulwiler y Saper (1984) han descrito una proyección desde PBN. Como se mencionó en la sección anterior, VMH está involucrado en ciertos aspectos motivacionales de la ingesta de alimento mientras que PBN se relaciona con los aspectos integrativos de dicho proceso. Aunque la función de estas vías es desconocida, su existencia permite sugerir la posibilidad de que el NBM esté involucrado en la

conducta alimenticia y lo colocan en una posición ideal para modular la ingesta tomando en cuenta tanto aspectos tales como el estado interno del organismo en contraposición a su experiencia previa con el alimento, como se discutirá más adelante.

### **Fisiología del NBM**

Los primeros estudios electrofisiológicos realizados en el NBM se centraron en la habilidad de sus neuronas para responder a estímulos sensoriales (DeLong, 1971). A pesar de que la frecuencia de disparo espontánea de las células del NBM es alta, ésta aumenta ante la presentación de algún estímulo, en particular de tipo apetitivo (DeLong, 1971; Richardson y DeLong, 1988). Al parecer, el aumento en la actividad de estas neuronas y el incremento concomitante en la liberación de acetilcolina en la corteza estimulan el estado de alerta del individuo (Sillito y Kemp, 1983). De manera interesante, el aumento en la actividad del NBM no se produce exclusivamente por la presencia del estímulo apetitivo sino también por la presentación de un estímulo que precede consistentemente a aquél (Richardson y DeLong, 1986). Más aún, si el animal se encuentra saciado (Burton y cols., 1976) o si dejan de presentarse juntos ambos estímulos (Mora y cols., 1976), el aumento en la respuesta del NBM no aumenta. De esta forma, el NBM es estimulado en condiciones en las que existe una contingencia de estímulos en la que uno de ellos indica la inminencia del otro, condición en la que se establece el aprendizaje.

De hecho, la presencia de acetilcolina en la corteza cerebral tiene un efecto facilitatorio sobre sus neuronas e induce cambios



en la conductancia de ciertos canales iónicos (en particular, la del canal de potasio estimulado por calcio; McCormick y Prince, 1986) muy similares a los observados durante en aprendizaje en modelos más simples como el molusco Aplysia (Hawkins y cols., 1983; Walters y Byrne, 1983). Esta serie de evidencias sugiere que la modulación colinérgica que el NBM ejerce sobre la corteza cerebral está muy relacionada al proceso de aprendizaje y, más aún, las características apetitivas del reforzador invitan a pensar que el procesamiento de la información neural necesaria para integrar los hábitos alimenticios es afectado por la actividad del NBM.

A raíz de estos estudios y de los citados con anterioridad sobre el deterioro intelectual que acompaña a procesos naturales como el envejecimiento o patológicos como la enfermedad de Alzheimer y su relación con una reducción de los marcadores colinérgicos corticales y con una disminución en el número de neuronas del NBM, una cantidad abrumadora de estudios han tratado de evaluar el papel de la transmisión colinérgica y, en particular, el del NBM en el aprendizaje y la memoria, algunos de los cuales se mencionan a continuación.

La acetilcolina y el aprendizaje. El modelo experimental que se ha explotado con más frecuencia en el estudio del papel de la transmisión colinérgica en el aprendizaje es de naturaleza farmacológica. Es decir, el efecto de la administración sistémica de drogas que alteran la función colinérgica ha sido estudiado en el contexto de la adquisición y de la ejecución de pruebas de aprendizaje tanto en animales de experimentación como en el humano

(Tabla 1). En términos generales, se ha observado que las drogas capaces de bloquear la transmisión colinérgica tienen un efecto deletéreo sobre el aprendizaje, mientras que la administración de compuestos con propiedades agonísticas lo facilitan. ¿Son estos efectos ocasionados dentro del sistema nervioso central? Esta pregunta es pertinente pues la administración sistémica del fármaco posee una baja especificidad y, presumiblemente, tiene efectos periféricos que pueden afectar a los procesos cognoscitivos indirectamente (tales como alteraciones sensoriales o motoras interfiriendo con el sistema nervioso autónomo o con la transmisión neuromuscular). Afortunadamente, la mayoría de los trabajos han controlado tales variables, de tal manera que la evidencia actual permite concluir con seguridad que la acetilcolina cerebral juega un papel preponderante en el aprendizaje.

Vale la pena aclarar que esta lista no pretende ser exhaustiva, sino ilustrativa de los resultados que se han obtenido en diferentes modelos. De igual forma, la mayoría de los resultados citados han sido reproducidos una cantidad considerable de ocasiones, por lo que solamente se consignan los trabajos en los que el fenómeno se describió por primera vez.

El NBM y el aprendizaje. Una vez que se reconoció el papel de la transmisión colinérgica en el aprendizaje y la memoria, surgió el interés por conocer el sitio exacto de su participación. Así, el cerebro anterior basal se convirtió en el modelo de elección para estudiar el proceso debido a la gran cantidad de neuronas colinérgicas que posee. De todos los núcleos que constituyen al

**TABLA 1**

**Efecto de diversas drogas colinérgicas sobre el aprendizaje**

Droga	Prueba conductual	Efecto	Especie	Referencia
Escopolamina	Discriminación auditiva	↓	Rata	Hearst, 1959
Escopolamina	Laberinto	↓	Rata	Pazzagli y Pepeu, 1964
Escopolamina	Prevención activa	↓	Rata	Daly, 1968
Escopolamina	Prevención pasiva	↓	Ratón	Glick y cols., 1973
Escopolamina	Discriminación visual	↓	Mono	Bartus y Johnson, 1976
Escopolamina	Discriminación espacial	↓	Mono	Ridley y cols., 1984
Escopolamina	"Delayed matching"	↓	Rata	Dunnett, 1985
Escopolamina	Listas de números	↓	Humano	Safer y Allen, 1971
Escopolamina	Discriminación visual	↓	Humano	Dundee y Pandit, 1972
Escopolamina	Listas de palabras	↓	Humano	Sitaram y cols., 1978
Escopolamina	Aprendizaje asociativo	↓	Humano	Crow, 1979
Atropina	Prevención pasiva	↓	Rata	Buresova y cols., 1964

Atropina	Aversión a los sabores	↓	Rata	Gould y Yatvin, 1973
Atropina	Discriminación visual	↓	Rata	Rick y cols., 1981
Atropina	Discriminación auditiva	↓	Rata	Rick y cols., 1981
Atropina	Laberinto de Morris	↓	Rata	Sutherland y cols., 1982
Atropina	Aprendizaje asociativo	↓	Humano	Crow, 1979
Fisostigmina	Laberinto en Y	↑	Ratón	Hamburg, 1967
Fisostigmina	Discriminación auditiva	↑	Rata	Rick y cols., 1981
Fisostigmina	Discriminación visual	↑	Rata	Rick y cols., 1981
Fisostigmina	"Delayed matching"	↑	Mono	Bartus y cols., 1983
Fisostigmina	Prevención pasiva	↑	Rata	Haroutunian y cols., 1985
Arecolina	"Delayed matching"	↑	Mono	Bartus y cols., 1983
Arecolina	Laberinto en T	↑	Ratón	Flood y cols., 1985
Arecolina	Prevención pasiva	↑	Rata	Haroutunian y cols., 1985
Arecolina	Listas de palabras	↑	Humano	Sitaram y cols., 1978

Tabla modificada de Collerton (1986).

cerebro anterior basal, el septum (Ch1) y el NBM (Ch4) son los que más atención han recibido en este sentido. Dado que las proyecciones del septum varían sustancialmente de las del NBM y su papel en el aprendizaje ha sido claramente establecido en diversos modelos (revisados en Gray y McNaughton, 1983), una discusión detallada de esta sistema queda fuera de los objetivos del presente trabajo.

Por su parte, el papel del NBM en procesos cognoscitivos también ha sido estudiado con sumo detalle, siendo la destrucción selectiva de las neuronas de este núcleo el paradigma que ha guiado la investigación en este campo (Tabla 2). Nuevamente, esta tabla no pretende incluir todos los estudios realizados al respecto, sino los más relevantes con el fin de ilustrar los alcances del modelo.

Al igual que en el caso de los experimentos en los que se han usado agonistas y antagonistas colinérgicos, los resultados obtenidos con la lesión del NBM han sido reproducidos una gran cantidad de veces. Paradójicamente, la interpretación de estos resultados no es inmediata y existe aún cierta controversia respecto a la validez del modelo. Por un lado, el efecto de la lesión sobre procesos de otro tipo, tales como la atención o la motivación en oposición a los puramente cognoscitivos, aún no es entendido del todo (Everitt y cols., 1987). El uso de paradigmas de aprendizaje más rigurosos (Dunnett y cols., 1989) ha ayudado a incrementar la credibilidad del sistema.

Por otra parte, uno de los aspectos que son más seriamente criticados concierne a la especificidad de la lesión.

**TABLA 2**

**Efecto de la lesión del NBM sobre el aprendizaje<sup>1</sup>**

Lesión <sup>b</sup>	Prueba conductual	Referencia
Acido iboténico	Prevención pasiva	Flicker y cols., 1983
Acido iboténico	Prevención activa	Flicker y cols., 1983
Acido iboténico	"Delayed matching to position"	Dunnett, 1985
Acido iboténico	Laberinto en T	Hepler y cols., 1985
Acido iboténico	Laberinto de ocho brazos	Hepler y cols., 1985
Acido iboténico	Laberinto de Morris	Whishaw y cols., 1985
Acido iboténico	Discriminación visual	Everitt y cols., 1987
Acido kaínico	Prevención pasiva	Friedman y cols., 1983
Acido kaínico	Laberinto en T	Dubois y cols., 1985
Acido kaínico	Laberinto de ocho brazos	Dubois y cols., 1985
Acido kaínico	Discriminación espacial	Lerer y cols., 1985
Acido kaínico	Prevención activa	Lerer y cols., 1985

NMDA <sup>c</sup>	Laberinto de Morris	Dunnett y cols., 1987
NMDA	Prevención pasiva	Dunnett y cols., 1987
Acido quisquálico	Prevención pasiva <sup>d</sup>	Dunnett y cols., 1987
Acido quisquálico	Laberinto de Morris <sup>d</sup>	Dunnett y cols., 1987
Acido quisquálico	"Delayed matching to position"	Dunnett y cols., 1989
Acido quisquálico	"Delayed non-matching"	Dunnett y cols., 1989
Acido quisquálico	Aversión a los sabores	López-García y cols. <sup>e</sup>

<sup>a</sup>En todos estos trabajos, la lesión produjo un deterioro en la ejecución de la tarea

<sup>b</sup>Todos los resultados se obtuvieron con lesión bilateral del NBM en la rata adulta

<sup>c</sup>Acido N-metil-D-aspartico

<sup>d</sup>La deficiencia producida por el ácido quisquálico en estas tareas no es tan profunda como la del resto de las neurotoxinas

<sup>e</sup>Este trabajo

Evidentemente, el uso de lesiones electrolíticas invita a pensar que cualquier deficiencia conductual es atribuible a la destrucción de fibras que atraviesan la estructura en cuestión y no a la de las neuronas de dicho núcleo. El desarrollo de sustancias neurotóxicas que eliminan células nerviosas sin interferir con la función de fibras de paso, tales como los ácidos kaínico e iboténico, ha solucionado en parte este problema. Sin embargo, y a pesar del desarrollo de moléculas tales como el ión AF64A (Fisher y cols., 1982; Smith, 1988), no existe ninguna neurotoxina que exhiba una absoluta selectividad por neuronas colinérgicas. De esta manera, el problema se convierte en determinar si las alteraciones conductuales observadas tras la lesión se deben a la destrucción de este tipo neuronal o a la de células que emplean otro neurotransmisor. En un intento por resolver este conflicto, Dunnett y cols. (1987) estudiaron el efecto de la inyección de diferentes neurotoxinas en el NBM sobre una batería de pruebas conductuales y su correlación con la disminución de diversos marcadores de la transmisión colinérgica en la corteza cerebral. Ellos encontraron que el ácido quisquálico, agonista de un subtipo de receptor para aminoácidos excitadores, produjo la mayor depleción colinérgica cortical pero una menor cantidad de déficits conductuales en comparación con el resto de las toxinas que se usan rutinariamente para lesionar al NBM. De esta manera, concluyeron que, efectivamente, algunos de los efectos observados no son atribuibles a la lesión del núcleo (esto es, son inespecíficos) y que debe tenerse mucho cuidado en el análisis de los datos obtenidos usando



este modelo y en la selección del neurotóxico a utilizarse. Otra estrategia que se ha utilizado para solucionar el problema de la especificidad en los efectos de la lesión es el uso de trasplantes de tejido fetal al cerebro de animales lesionados en el NBM (Dunnett, 1990). De esta forma, se ha demostrado que transplantando los primordios del cerebro anterior basal obtenidos de un embrión de rata al cerebro de la rata adulta previamente lesionada en el NBM, es posible obtener recuperación del aprendizaje en una tarea de prevención pasiva (Fine y cols., 1985a; Dunnett y cols., 1985). Más aún, se ha demostrado que las neuronas en estos trasplantes contienen ChAT y establecen contactos sinápticos con el cerebro hospedero (Fine y cols., 1985b). Aunque el papel de las neuronas no colinérgicas que pueden formar parte del trasplante no se ha estudiado, estos resultados apoyan la idea de que las proyecciones colinérgicas originadas en el NBM participan en el procesamiento de la información en ciertas tareas conductuales.

Por último, otra crítica que sufre el uso de lesiones del NBM para estudiar su papel en el aprendizaje se refiere a la vía específica a través de la cual participa en el proceso. En otras palabras, ¿es la proyección colinérgica del NBM hacia la corteza cerebral la responsable directa de las deficiencias cognitivas observadas? A pesar de que existe una serie de trabajos que ha demostrado una correlación entre la lesión del NBM y la reducción de diversos marcadores colinérgicos corticales tales como la captura de colina de alta afinidad (Bartus y cols., 1985; El-Defrawy y cols., 1985), la liberación de acetilcolina (El-Defrawy

y cols., 1985), la actividad de ChAT (Bartus y cols., 1985; Dubois y cols., 1985; Everitt y cols., 1987; Dunnett y cols., 1987, 1989) y la presencia de acetilcolinesterasa (El-Defrawy y cols., 1985; Dunnett y cols., 1987; Everitt y cols., 1987), no hay que olvidar que el NBM envía fibras colinérgicas a la amígdala basolateral (Mesulam y cols., 1983a, b), estructura que ha sido implicada en diversos procesos de aprendizaje (Sarter y Markowitsch, 1985; Kesner y DiMattia, 1987). Por lo tanto, cabe la posibilidad de que esta proyección sea la verdadera responsable de los efectos de la lesión. En el estudio que ha evaluado de manera más crítica esta pregunta, Kesner y cols. (1990) encontraron que la lesión de la amígdala basolateral y la del NBM tuvieron efectos comparables en la ejecución de un laberinto de ocho brazos, mientras que la destrucción de las cortezas frontodorsolateral y parietal no tuvieron efecto en el mismo paradigma. Aunque el papel de otras regiones corticales en este modelo no puede ser descartado, sus datos invitan a revalorar la participación de la acetilcolina de la amígdala en el efecto de la lesión del NBM. Lamentablemente, nadie ha reportado cambios en algún marcador colinérgico en la amígdala de animales lesionados en el NBM.

En resumen, la participación de la proyección colinérgica hacia la corteza cerebral originada en el NBM en modelos de condicionamiento clásico y de condicionamiento operante está razonablemente bien establecida. Dadas las relaciones anatómicas de este núcleo con las estructuras que median la conducta alimenticia y las diferencias entre aquellos tipos de condicionamiento y el de

aversión a los sabores, cabe la pregunta: ¿está el NBM involucrado en este tipo de aprendizaje? Responder esta pregunta es el objetivo del presente trabajo.

## OBJETIVOS

La existencia de acetilcolina, colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa, en la corteza insular de la rata sugiere la posibilidad de que aquélla funcione como neurotransmisor en esta estructura. Más aún, el hecho de que la recuperación del aprendizaje del condicionamiento aversivo a los sabores mediada por trasplantes de corteza insular fetal se correlacione a la liberación de acetilcolina sugiere que este transmisor está involucrado en la integración de la información gustativa con la visceral. Dado que la mayor parte de la acetilcolina de la corteza cerebral se origina en el núcleo basalis magnocellularis, la posibilidad de que este núcleo envíe proyecciones a la corteza insular que estén involucradas en la adquisición y/o en la evocación del condicionamiento aversivo a los sabores resulta interesante.

Así, los objetivos del presente trabajo son: 1) demostrar la existencia de una proyección del núcleo basalis magnocellularis hacia la corteza insular y su naturaleza colinérgica y 2) establecer su participación tanto en el aprendizaje como en la memoria del condicionamiento aversivo a los sabores.

## RESULTADOS

En la sección experimental del presente trabajo se describen las técnicas histológicas, quirúrgicas, conductuales y bioquímicas empleadas para alcanzar los objetivos mencionados.

En términos generales, la existencia de la conexión entre el núcleo basalis magnocelularis y la corteza insular fue evidenciada mediante la administración estereotáxica de un trazador de vías neurales. En lo referente al estudio de su papel en el condicionamiento aversivo a los sabores, el núcleo fue lesionado excitotóxicamente y, posteriormente, los animales fueron entrenados en un modelo experimental de aversión. Al final de las pruebas conductuales, la corteza insular fue disecada para determinar su actividad de colina acetiltransferasa y la liberación de acetilcolina estimulada por concentraciones despolarizantes de potasio.

La metodología empleada y los resultados obtenidos se presentarán a continuación en forma detallada en un artículo publicado en la revista *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*.

**EFFECTS OF EXCITOTOXIC LESIONS OF THE NUCLEUS BASALIS  
MAGNOCELLULARIS ON CONDITIONED TASTE AVERSION AND INHIBITORY  
AVOIDANCE IN THE RAT**

# Effects of Excitotoxic Lesions of the Nucleus Basalis Magnocellularis on Conditioned Taste Aversion and Inhibitory Avoidance in the Rat

JUAN CARLOS LÓPEZ-GARCÍA, JUAN FERNÁNDEZ-RUIZ, MARTHA L. ESCOBAR, FEDERICO BERMÚDEZ-RATTONI AND RICARDO TAPIA<sup>1</sup>

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

Received 10 December 1991

LÓPEZ-GARCÍA, J. C., J. FERNÁNDEZ-RUIZ, M. L. ESCOBAR, F. BERMÚDEZ-RATTONI AND R. TAPIA. *Effects of excitotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis on conditioned taste aversion and inhibitory avoidance in the rat.* PHARMACOL BIOCHEM BEHAV 45(1) 147-152, 1993. — The role of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) in a variety of learning tasks is well known. Lesions of this nucleus result in a reduction of cholinergic transmission throughout a vast portion of the cortex. Because cholinergic transmission in the insular cortex seems to be important for the acquisition of conditioned taste aversion, the aim of the present work was to study the effects of bilateral chemically induced lesions of the NBM on this conditioning, as correlated with some cholinergic markers in the insular cortex. The effect on inhibitory avoidance was also studied. Lesions prevented the acquisition of the aversion and disrupted retention of the task in previously trained animals. Learning in the inhibitory avoidance paradigm was also notably affected. Postlesion reductions of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities and of K<sup>+</sup>-stimulated [<sup>3</sup>H]acetylcholine release were found in the insular cortex. Further, in intact rats labelling of NBM neurons was observed by retrograde tracing after injection of Fluoro-Gold into the insular cortex. These findings indicate that the NBM is involved in the neural integration of feeding behavior and that its cholinergic projection to the insular cortex is one of the implicated neurotransmitter systems.

Nucleus basalis magnocellularis    Insular cortex    Conditioned taste aversion    Choline acetyltransferase  
Acetylcholine release

THE nucleus basalis magnocellularis (NBM) is the major source of cholinergic projections to the cerebral cortex (25, 26,30) and it is known to be involved in a variety of learned behaviors (5,6,17,27,31,34,36).

Conditioned taste aversion (CTA) is a learning paradigm in which animals acquire aversion to a taste cue when it is followed by digestive malaise (14). The brain structures involved in CTA learning have been well established (19). The agranular insular cortex (IC), a region of the temporal cortex in the rat, corresponding to Krieg's areas 13 and 14 and referred to as gustatory neocortex (4), has been implicated as a neural substrate of CTA (4,20). Recently, it has been demonstrated that the IC is also involved in the acquisition and consolidation of spatial and inhibitory avoidance learning tasks (2,3).

We have previously shown that the adult IC is able to release significant amounts of radioactive acetylcholine (ACh)

after K<sup>+</sup>-depolarization in a Ca<sup>2+</sup>-dependent manner and possesses choline acetyltransferase (ChAT) and acetylcholinesterase (AChE) activities (21). However, it is not known whether this cholinergic input arises from the NBM and whether such projection is involved in CTA learning. Hence, the aim of the present work was to study the existence of a cholinergic pathway arising from the NBM to the IC and its possible role in the flow of taste information. For this purpose, we analyzed the effect of excitotoxin-induced lesions of the NBM on CTA and its relationship with neurochemical alterations in the cholinergic neurotransmission in the IC.

## METHOD

### *Subjects and Surgical Procedure*

Adult, male Wistar rats weighing 250 ± 10 g at the start of the experiment were used. They were housed individually,

<sup>1</sup> To whom requests for reprints should be addressed.

under an inverted 12 D:12 L cycle, with food and water ad lib except when indicated.

Under pentobarbital anesthesia (50 mg/kg), bilateral lesions of the NBM were made in 40 animals by stereotaxic injection of 0.5  $\mu$ l 0.12 M quisqualic acid (QA) dissolved in phosphate-buffered saline (PBS), using the following set of coordinates with respect to bregma: AP  $-1.8$  mm, L  $\pm 3.2$  mm, V  $-6.8$  mm (29). Bregma and lambda were set at the same horizontal level. The use of this neurotoxin differs from most articles, in which ibotenic acid has been employed to destroy the NBM. However, it has been reported that QA shows a higher degree of specificity for NBM neurons than ibotenate and that after QA-induced lesion of the NBM cortical ACh is decreased as after ibotenate acid but without the nonspecific behavioral deficits observed with the latter (9).

The duration of the stereotaxic injection was 5 min, with a further 5-min period allowed for diffusion. In preliminary experiments, it was observed that the bilateral injection of QA during the same period of anesthesia resulted in severe loss of weight and death of the majority of animals. Therefore, a 1-week interval between the QA injection into the right and left NBM was allowed. Control rats ( $n = 13$ ) received injections of PBS only. Behavioral and neurochemical tests were started 2 and 4 weeks, respectively, after the second injection (see the Results section). Of the 40 rats injected, 14 were discarded because the histological examination showed that the injection site was misplaced.

#### Behavioral Procedures

**Inhibitory avoidance.** Training for inhibitory (passive) avoidance was carried out in a two-compartment box (30  $\times$  40  $\times$  15 cm) divided by a sliding door. One of the chambers was illuminated by a 40-W light bulb. The other chamber was not illuminated and its floor was a metal plate through which electric shocks were delivered. During the acquisition session, animals were placed in the illuminated chamber and after 30 s the sliding door was opened, allowing the rat to enter the dark compartment. The time elapsed since the door was opened until the rat moved into the dark chamber was recorded. Then, the door was closed and a 0.8-mA DC foot-shock was delivered for 3 s. The door was opened and the animal was allowed to return to the illuminated side. Twenty-four hours later, the same procedure was followed except foot-shock was not applied (retention trial). If the rat did not enter the dark chamber within 600 s, the test was stopped and the animal was returned to its home cage.

**Conditioned taste aversion.** A previously described experimental model of CTA was used (22). Briefly, animals were deprived of water for 24 h and trained to drink water twice a day during 10-min trials for 4 days. On the fifth day, a 0.1 M LiCl solution was given instead of water to induce taste aversion. After 4 more days of baseline consumption, water was substituted by a 0.1 M NaCl solution to test the aversion. LiCl and NaCl are indistinguishable by rats (38). A decrease of NaCl intake during the test trial was considered as aversion to the salty taste.

#### Neurochemical Procedures

**Release of labeled neurotransmitters.** The simultaneous release of [ $^3$ H]GABA and [ $^3$ H]ACh in IC slices was studied using a previously described superfusion method (21,28). Animals were decapitated and their brains quickly removed. The IC was dissected using the middle cerebral artery and the rhinal sulcus as references (4,20,37). IC slices (200  $\mu$ m thickness)

were obtained in a McIlwain tissue chopper and preincubated (about 15 mg tissue) for 10 min at 37°C in 1 ml of an oxygenated medium containing (in mM concentrations): NaCl 118, KCl 4.7, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, glucose 5.5, Tris-HCl 25, pH 7.4, aminoxyacetic acid 0.1, and eserine 0.1. After this period, the slices were incubated for another 10-min period in the presence of both [ $^3$ H]GABA (2  $\mu$ Ci, 0.5  $\mu$ M) and [ $^3$ H]choline chloride (2  $\mu$ Ci, 0.5  $\mu$ M) and 0.8-ml aliquots were transferred to superfusion chambers holding 0.65- $\mu$ m filters. Tissue was washed by superfusion during 5 min and then the collection of 1-min fractions of the superfusate was started. At the end of the fifth fraction, the medium was substituted by one containing 47 mM KCl and 10 more fractions were collected. The radioactivity in each fraction and that remaining in the filter was counted by scintillation spectrometry, with the double-channel procedure; correction for  $^{13}\text{C}/^3\text{H}$  overlapping was made. Results are expressed as percent of total radioactivity released per minute. Total radioactivity is the sum of total released radioactivity plus that remaining in the filter at the end of the superfusion.

The identity of the radioactive compounds released by K<sup>+</sup>-depolarization under these experimental conditions has been previously established. About 80% of the  $^{14}\text{C}$  label released corresponds to GABA (28), whereas more than 95% of the tritium radioactivity released represents ACh (21).

**Enzyme activities.** Water homogenates of the IC were used for measuring enzymatic activities by previously described procedures. ChAT (13,21) and glutamate decarboxylase (GAD) (1,21) activities were measured by radioisotopic techniques and AChE activity according to a spectrophotometric method (10). Protein was determined using the Folin reagent method as described (23).

#### Histology

To assess the lesion induced by QA microinjection, some animals were anesthetized with an overdose of pentobarbital and perfused through the ascending aorta with 0.15 M NaCl followed by a 4% paraformaldehyde, 0.1% glutaraldehyde solution in PBS. The brains were subsequently immersed for 2 h in the fixation solution and then in 20% sucrose during 24 h, prior to sectioning. A series of coronal sections (40  $\mu$ m thickness) were cut in a cryostat, collected in PBS, mounted on gelatin-coated slides, and stained with cresyl violet (Nissl staining) by standard procedures.

In another group of 10 nonlesioned rats, 0.5  $\mu$ l of a 2% Fluoro-Gold solution (33) were unilaterally injected in the IC over a 5-min period. Four days later, animals were perfused, their brains sliced as described above, and the site of injection verified histologically by locating the needle track. The appearance of Fluoro-Gold in retrogradely labeled neurons in the NBM was studied with the aid of a fluorescence microscope.

#### Statistical Analysis

Overall differences among the data from the behavioral experiments were analyzed using one-way analyses of variance (ANOVAs). Posthoc comparisons were made using the Fisher's least significant difference test. Biochemical data were analyzed using Student's *t*-tests. In all cases, values of  $p < 0.05$  were considered significant.

#### Chemicals

[U- $^{14}\text{C}$ ]Aminobutyric acid (sp. act. 192 mCi/mmol) and [ $^3\text{H}$ ]acetyl-coenzyme A (1.6 Ci/mmol) were purchased



LESION

CONTROL

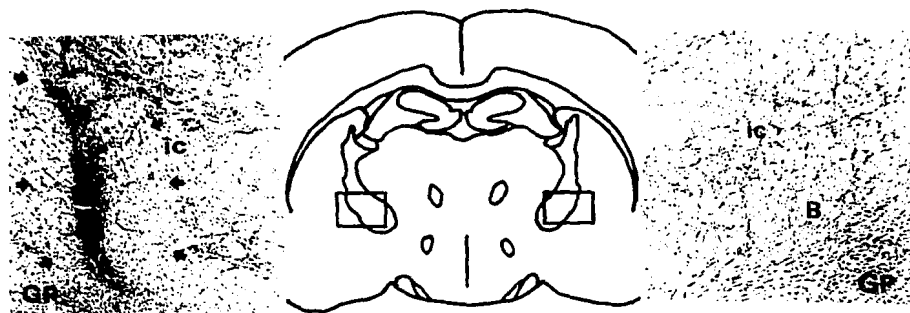


FIG. 1. Center: diagram of a section of rat brain at the NBM. Left: micrograph of a Nissl-stained section of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) (B) 2 weeks after the lesion induced by quisqualic acid (QA) microinjection; the arrows indicate the limits of the lesion ( $\times 20$ ). Right: micrograph of the same region in a control rat. GP, globus pallidus; ic, internal capsule. Note the important gliosis in the lesioned region.

from NEN Dupont (Boston, MA). [Methyl- $^3\text{H}$ ]choline chloride (80 Ci/mmol) and [ $1\text{-}^{14}\text{C}$ ]L-glutamic acid (56 mCi/mmol) were obtained from Amersham (Buckinghamshire, UK). Quisqualic acid was purchased from Tocris Neuramin (Essex, UK). Other chemicals were obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO).

RESULTS

*Histological Observations*

**Retrograde tracing.** Injection of Fluoro-Gold into the IC of intact animals resulted in labeling of a great number of neurons in the ventroposteromedial thalamic nucleus and in the basolateral amygdala ipsilateral to the injection site, as previously described (11). In agreement with other studies (32), in the ipsilateral NBM some Fluoro-Gold containing large neurons were observed, although they were less abundant than in the former structures (results not shown).

**Assessment of the NBM lesion.** In control as well as in lesioned animals, the needle track was readily identified by the presence of gliosis. In PBS-injected animals, gliosis was also observed in the NBM area but the appearance of the neurons within the injection site was normal. The injection of QA in the NBM, however, produced loss of magnocellular neurons in the area, as revealed by Nissl staining (Fig. 1).

*Behavioral Observations*

**Inhibitory avoidance.** The deleterious effect of NBM lesion on the inhibitory avoidance task has been previously reported (17,27). In the present study, no differences were observed in the latency to enter the dark chamber during the acquisition session between the control and the experimental group ( $< 30$  s in most cases) and, in agreement with the previously described deficits, 70% of control rats reached the maximum latency allowed during the retention trial, with a mean value

of 485 s, whereas NBM-lesioned rats entered the dark chamber within the first 200 s of the test (Table 1). All animals vocalized as a response to the electric shock during the acquisition session, indicating that pain sensitivity was not affected by the lesion.

**Conditioned taste aversion.** A small, nonsignificant reduction in the intake of the LiCl solution vs. the baseline intake (neophobia) was found in the control group (Table 2). This trend was not observed in lesioned animals. During the test, however, a highly significant reduction in NaCl intake was observed in control animals, whereas NBM-lesioned rats drank as much of the solution as during their daily intake (Table 2). As mentioned above, a decreased intake during the test trial should be considered as aversion to the salty taste.

In another series of experiments, the effect of the NBM lesion in previously trained animals was studied. In this case, the LiCl solution was given 2 days before the first QA injection into the right NBM and animals were tested with the NaCl solution 2 weeks after the injection into the left side (see the Method section). As shown in Table 2, there was a marked decrease of NaCl consumption by the control group during

TABLE I  
EFFECT OF NBM LESION ON  
INHIBITORY AVOIDANCE

	Inhibitory Avoidance Latencies (seconds)	
	Acquisition	Test
Control (13)	20.1 $\pm$ 5.0	485 $\pm$ 62.5
Lesioned (26)	22.6 $\pm$ 5.6	167 $\pm$ 44.6*

Figures are mean values  $\pm$  SEM for the number of animals shown in parentheses.

\* $p < 0.001$  vs. control group.

TABLE 2  
EFFECT OF NBM LESION ON CONDITIONED TASTE AVERSION

	Acquisition	Baseline	Test	% Intake
Lesion before acquisition				
Control (13)	9.1 ± 0.9	10.8 ± 0.5	5.2 ± 0.5*	49 ± 5
Lesioned (26)	10.3 ± 0.7	10.5 ± 0.4	9.4 ± 0.8*	90 ± 7*
Lesion after acquisition				
Control (10)	9.6 ± 0.8	10.7 ± 0.6	6.3 ± 1.3*	52 ± 14
Lesioned (9)	11.6 ± 0.9	10.4 ± 0.4	12.7 ± 1.1*	122 ± 10*

Results are expressed as absolute water intake (in ml) during each of the stages of the behavioral procedure and as percentage of water intake during the test as compared to baseline consumption (last column). Figures are mean values ± SEM for the number of animals shown in parentheses.

\* $p < 0.001$  vs. control group.

\* $p < 0.001$  vs. baseline intake.

the test, whereas lesioned animals did not reduce the intake even though they had been previously trained.

#### Biochemical Determinations

**Release of neurotransmitters.** [ $^{14}$ C]GABA release from IC slices in response to high  $K^+$  concentrations is shown in Fig. 2. As previously described (21), in IC slices from control rats  $K^+$ -depolarization produced a threefold peak increase of labeled GABA release as compared with the basal prestimulation value. The NBM lesion did not affect this release because identical results were obtained with IC slices prepared from lesioned animals.

[ $^3$ H]ACh release was studied in the same set of IC slices used for [ $^{14}$ C]GABA release experiments (see the Method section). As shown in Fig. 2, and in agreement with previous findings (21),  $K^+$ -depolarization resulted in a 100% peak stimulation of ACh release in control IC slices. In tissue obtained

from lesioned animals, there was a 37% reduction of the  $K^+$ -stimulated [ $^3$ H]ACh release (stimulation peak related to the basal release) as compared to control tissue.

**Enzyme activities.** As shown in Table 3, IC homogenates from control and lesioned animals had similar GAD activity. When the incubation medium was supplemented with pyridoxal-5'-phosphate, GAD activity is enhanced by 100% and the NBM lesion had no effect on GAD activation by its coenzyme. In contrast, ChAT activity in IC homogenates was notably reduced (46% decrease as compared to controls) after the NBM lesion. AChE activity was also decreased (by 30%) in lesioned animals, although this reduction did not reach statistical levels of significance (Table 3).

#### DISCUSSION

The major cholinergic input to the cerebral cortex is the NBM, and this seems to include a specific projection to the IC (32). The histological, neurochemical, and behavioral results of the present work clearly support this possibility and further indicate that this pathway may be involved in CTA. Besides the appearance of labeled neurons in the NBM when the retrograde tracer Fluoro-Gold was injected into the IC of intact rats, our neurochemical observations after the QA-induced lesion indicate the putative cholinergic nature of this pathway.

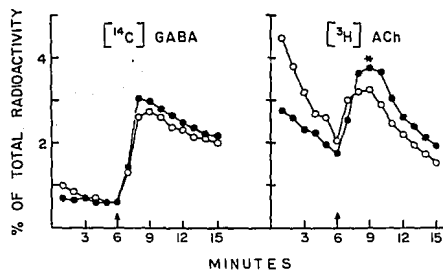


FIG. 2.  $K^+$ -stimulated release of labeled GABA (left) and acetylcholine (ACh) (right) from insular cortex (IC) slices obtained from nucleus basalis magnocellularis (NBM)-lesioned animals ( $\circ$ ) and control rats ( $\bullet$ ) in the presence of  $Ca^{2+}$ . After loading the slices simultaneously with [ $^{14}$ C]GABA and [ $^3$ H]choline, they were superfused as described in the Method section. At 6 min (arrow), the superfusion medium was substituted by medium containing 47 mM KCl. Mean values of 26 experiments for lesioned rats and 13 for control animals. The maximum SEM was 20% of the corresponding mean but for most points it was smaller than 10%. \* $p < 0.05$  vs. control group.

TABLE 3  
EFFECT OF NBM LESION ON  
ENZYME ACTIVITIES IN THE IC

	Control (13)	Lesioned (26)
GAD		
+ PLP	45.3 ± 5.4	40.8 ± 6.3
- PLP	16.9 ± 2.5	21.0 ± 3.1
ChAT	62.0 ± 8.9	33.4 ± 4.2*
AChE	942 ± 196	672 ± 88

Results are expressed as nmol/h/mg protein. Figures are mean values ± SEM for the number of animals shown in parentheses. GAD activity was determined in the presence and absence of pyridoxal-5'-phosphate (PLP).

\* $p < 0.01$  vs. control group.

The notable reduction of ChAT activity in the IC after QA-induced lesion of the NBM is in agreement with previously reported decreases in other cortical regions using QA as the neurotoxic agent (8). In addition, we observed a 30% decrease of AChE activity, although with considerable experimental variability, and a 37% reduction in [<sup>3</sup>H]ACh release. A greater release reduction was expected because ChAT activity was considerably decreased and the tissue was loaded with labeled choline. This disagreement can be explained by the remaining unlesioned cholinergic fibers, which might take up choline and synthesize and release ACh in a normal fashion. In fact, at least 20% of the ACh present in the cortex does not arise from the NBM (9,16) and it may be presumed that this value applies also to the IC.

The fact that [<sup>14</sup>C]GABA release and GAD activity in the IC were not altered by the NBM lesion rules out the possibility of nonspecific damage of the IC and indicates that GABAergic neurotransmission, if involved, is not sufficient for CTA learning. The possibility that other neuroactive substances known to be present in the IC, such as glutamate (21), cholecystokinin, somatostatin, or enkephalin (24), may be involved in gustatory neural processing remains open.

Several avoidance and spatial learning tasks are affected by NBM destruction. The impairment of inhibitory avoidance in NBM-lesioned rats seen in the present study agrees with previous findings on the role of NBM in this model (17,27). Because lesions of the IC also disrupt passive avoidance (2,3) and because, as discussed above, there is a NBM projection to the IC, the loss of this connection may be involved in this behavioral deficit.

The main and novel behavioral finding of the present study

was the marked impairment of CTA learning after NBM damage. Our results do not establish the particular stage of CTA learning in which the NBM is involved. Because central cholinergic blockade prevents the acquisition of CTA (15), the NBM projection to the IC might be the anatomic substrate of such interference. On the other hand, the NBM may also be involved in CTA information retrieval. Indeed, our present results show that animals that were trained before the surgery did not retain the CTA after NBM destruction, suggesting a role for NBM in CTA memory.

Opposite the present results, in a previous study in which the NBM was lesioned with ibotenate no effect on CTA was observed (12). This discrepancy might be due to the fact that in the latter work animals were preexposed to the conditioned taste several times prior to the induction of the digestive malaise.

Finally, it has been proposed that the learning deficits observed after NBM lesions are due to an effect on its limbic targets, mainly the amygdala, and not to the interruption of its neocortical projection (18). However, it has been shown that CTA learning is not mediated by the amygdala (3,7), and a recent report showed no participation of the NBM cholinergic projections to the amygdala in CTA (35).

In conclusion, our data indicate the existence of a cholinergic NBM projection to the IC and suggest that it may be one of the neurotransmitter systems involved in the neural integration of feeding behavior.

#### ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the Programa de Apoyo a los Proyectos de Investigación, DGAPA, U.N.A.M. (Grant IN-204689).

#### REFERENCES

- Albers, R. W.; Brady, R. D. The distribution of glutamic acid decarboxylase in the nervous system of the rhesus monkey. *J. Biol. Chem.* 234:926-928; 1959.
- Bermúdez-Rattoni, F.; Intriño-Collison, I. B.; McGaugh, J. L. Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:5379-5382; 1991.
- Bermúdez-Rattoni, F.; McGaugh, J. L. Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res.* 549:165-170; 1991.
- Braun, J. J.; Lasiter, P. S.; Kiefer, S. W. The gustatory neocortex of the rat. *Physiol. Psychol.* 10:13-45; 1982.
- Collerton, D. Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 19:1-28; 1986.
- Dubois, B.; Mayo, W.; Agid, Y.; Le Moal, M.; Simon, H. Profound disturbances of spontaneous and learned behaviors following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Brain Res.* 338:249-258; 1985.
- Dunn, L. T.; Everitt, B. J. Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversions, passive avoidance, and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behav. Neurosci.* 102:3-23; 1988.
- Dunnett, S. B.; Rogers, D. C.; Jones, G. H. Effects of nucleus basalis magnocellularis lesions in rats on delayed matching and nonmatching to position tasks. *Eur. J. Neurosci.* 1:395-406; 1989.
- Dunnett, S. B.; Whishaw, I. Q.; Jones, G. H.; Bunch, S. T. Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rats. *Neuroscience* 20:653-669; 1987.
- Eilman, G. L.; Courtney, D. K.; Andres, V.; Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7:88-95; 1961.
- Escobar, M.; Fernández, J.; Guevara-Aguilar, R.; Bermúdez-Rattoni, F. Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain Res.* 478:364-374; 1989.
- Everitt, B. J.; Robbins, T. W.; Evenden, J. L.; Marston, H. M.; Jones, G. H.; Sirkkiä, T. E. The effects of excitotoxic lesions of the substantia innominata, ventral and dorsal globus pallidus on the acquisition and retention of a conditional visual discrimination: implications for cholinergic hypotheses of learning and memory. *Neuroscience* 22:441-469; 1987.
- Fonnum, F. A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J. Neurochem.* 24:407-409; 1975.
- García, J.; Lasiter, P. S.; Bermúdez-Rattoni, F.; Deems, D. A. A general theory of aversion learning. *Ann. NY Acad. Sci.* 443: 8-20; 1985.
- Gould, M. N.; Yatvin, M. B. Atropine-caused central nervous system interference with radiation-induced learned and unlearned behaviours. *Int. J. Radiat. Biol.* 24:463-468; 1973.
- Hebb, C. O.; Krnjević, K.; Silver, A. Effect of undercutting on the acetylcholinesterase and choline acetyltransferase activity in the cat's cerebral cortex. *Nature* 198:692; 1963.
- Hepler, D. J.; Wenk, G. L.; Cribbs, B. L.; Olton, D. S.; Coyle, J. T. Memory impairments following basal forebrain lesions. *Brain Res.* 346:8-14; 1985.
- Kesner, R. P.; Crutcher, K. A.; Omana, H. Memory deficits following nucleus basalis magnocellularis lesions may be mediated through limbic, but not neocortical, targets. *Neuroscience* 38:93-102; 1990.
- Kiefer, S. W. Neural mediation of conditioned food aversions. *Ann. NY Acad. Sci.* 443:100-109; 1985.
- Lasiter, P. S.; Glanzman, D. L. Cortical substrates of taste aver-

- sion learning: Involvement of the dorsolateral amygdaloid nuclei and the temporal neocortex in taste aversion learning. *Behav. Neurosci.* 99:257-276; 1985.
21. López-García, J. C.; Bermúdez-Rattoni, F.; Tapia, R. Release of acetylcholine,  $\gamma$ -aminobutyrate, dopamine and glutamate, and activity of some related enzymes, in rat gustatory neocortex. *Brain Res.* 523:100-104; 1990.
  22. López-García, J. C.; Fernández-Ruiz, J.; Bermúdez-Rattoni, F.; Tapia, R. Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. *Brain Res.* 523:105-110; 1990.
  23. Lowry, O.; Rosebrough, N.; Farr, A.; Randall, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275; 1951.
  24. Manyth, P. W.; Hunt, S. P. Neuropeptides are present in projection neurons at all levels in visceral and taste pathways: From periphery to sensory cortex. *Brain Res.* 299:297-311; 1984.
  25. Mesulam, M. M.; Mufson, E. J.; Levey, A. I.; Wainer, B. H. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: Cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata) and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 214:170-197; 1983.
  26. Mesulam, M. M.; Mufson, E. J.; Wainer, B. H.; Levey, A. I. Central cholinergic pathways in the rat: An overview based in an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 10:1185-1201; 1983.
  27. Miyamoto, M.; Shintani, M.; Nagaoka, A.; Nagawa, Y. Lesioning of the rat basal forebrain leads to memory impairments in passive and active avoidance tasks. *Brain Res.* 328:97-104; 1985.
  28. Morales, E.; Tapia, R. Neurotransmitters of the cerebellar glomeruli: Uptake and release of labeled  $\gamma$ -aminobutyric acid, glycine, serotonin and choline in a purified glomerulus fraction and in granular layer slices. *Brain Res.* 420:11-21; 1987.
  29. Paxinos, G.; Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Sydney: Academic Press; 1982.
  30. Rye, D. B.; Wainer, B. H.; Mesulam, M.-M.; Mufson, E. J.; Saper, C. B. Cortical projections arising from the basal forebrain: A study of cholinergic and noncholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neuroscience* 13:627-644; 1984.
  31. Salamone, J. D.; Beart, P. M.; Alpert, J. E.; Iversen, S. D. Impairment in T-maze reinforced alternation performance following nucleus basalis magnocellularis lesions in rats. *Behav. Brain Res.* 13:63-70; 1984.
  32. Saper, C. B. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 210:163-173; 1982.
  33. Schmued, L. C.; Fallon, J. H. Fluoro-Gold: A new retrograde axonal tracer with numerous unique properties. *Brain Res.* 377:147-154; 1986.
  34. Smith, G. Animal model of Alzheimer's disease: Experimental cholinergic denervation. *Brain Res. Rev.* 13:103-118; 1988.
  35. Tardif, R.; Kesner, R. P.; Berman, R. F. Nucleus basalis magnocellularis is involved in taste aversion learning in rats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 14:1226; 1988.
  36. Whishaw, I. Q.; O'Connor, W. T.; Dunnett, S. B. Disruptions of central cholinergic systems in the rat by basal forebrain lesions or atropine: Effects on feeding, sensorimotor behaviour, locomotor activity and spatial navigation. *Behav. Brain Res.* 17:103-115; 1985.
  37. Yamamoto, T.; Kawamura, Y. Physiological characterization of cortical taste area. In: Le Magnen, J.; MacLeod, P., eds. *Olfaction and taste VI.* London: Information Retrieval; 1977:257-260.
  38. Yirmiya, R.; Zhou, F. C.; Holder, M. D.; Deems, D. A.; Garcia, J. Partial recovery of gustatory function after neural tissue transplantation to the lesioned gustatory neocortex. *Brain Res. Bull.* 20:619-625; 1988.

## DISCUSION GENERAL

Los objetivos planteados al principio de este trabajo han sido cumplidos con los datos presentados y la discusión del artículo comprende los aspectos más generales sobre la importancia de estos hallazgos. Sin embargo, quedan algunas preguntas que no son abordadas en profundidad en aquel apartado y que tienen cierta relevancia, por lo que merecen ser comentadas ahora.

En resumen, la pérdida de la conexión entre el NBM y la CI repercute negativamente en la adquisición y en la retención del CAS. ¿Implican estos resultados que esta deficiencia es estrictamente cognoscitiva? Es sumamente difícil llegar a una conclusión tan tajante pues no se pueden descartar efectos sensoriales, motivacionales o atencionales de la lesión. Sin embargo, ya se ha mencionado que animales decerebrados pueden responder a estímulos gustativos (Grill y Norgren, 1978a, b), lo que hace improbable que la destrucción del NBM impida la percepción del sabor. Por otro lado, la lesión no alteró el consumo basal de líquido de manera significativa indicando que los animales estaban igualmente "motivados" para ingerir el agua. Por último, es difícil saber si los animales estaban atentos al estímulo gustativo durante la prueba. Dado que el grupo lesionado sí ingirió la solución, se puede afirmar que estos animales estaban atentos a la presentación del bebedero. Esto no quiere decir, sin embargo, que el sabor per se fuera un estímulo relevante. Este aspecto del trabajo es importante pues, como se mencionó con anterioridad, el NBM parece estar involucrado en la generación de un estado de alerta en el

organismo (Sillito y Kemp, 1983; Richardson y DeLong, 1988). ¿Cómo interfiere la lesión del NBM con la relevancia del estímulo gustativo para el animal? Se requieren más experimentos para responder satisfactoriamente esta pregunta. De cualquier forma, una parte importante del proceso de aprendizaje es la generación de este estado de alerta (Richardson y DeLong, 1988). Establecer si esta etapa puede ser clasificada como "cognoscitiva" depende de la definición misma de "proceso cognoscitivo".

Durante la introducción se mencionaron diversas críticas que ha recibido la lesión del NBM como modelo para estudiar alteraciones en el aprendizaje. Intencionalmente, una de las más importantes fue omitida: ¿Qué tan comparables son las deficiencias cognoscitivas obtenidas en este modelo con las observadas durante el envejecimiento o en la enfermedad de Alzheimer? Los resultados obtenidos en este trabajo guardan cierta relación con esta pregunta pero, para entenderla, es necesario profundizar un poco en la etiología del padecimiento.

Una de las características fundamentales que poseen los pacientes con enfermedad de Alzheimer es una disminución muy marcada de sus facultades intelectuales (Davies y Maloney, 1976; Bartus y cols., 1982; Collerton, 1986). Aunque la causa exacta de este proceso es desconocida, se ha reportado consistentemente una reducción considerable en el número de neuronas colinérgicas del NBM y en la presencia de marcadores colinérgicos en la corteza cerebral de individuos con el padecimiento (Davies y Maloney, 1976; Whitehouse y cols., 1982). Estos hallazgos, reportados en repetidas

ocasiones, condujeron a la formulación de la "hipótesis colinérgica de la demencia senil" (Bartus y cols., 1982), de acuerdo con la cual, la degeneración de las neuronas colinérgicas de NBM es el factor causal de los trastornos cognoscitivos observados en el curso de la enfermedad.

La transparencia de esta idea ha estimulado la investigación en el campo de tal forma que la cantidad de trabajos estableciendo correlaciones entre la demencia y la acetilcolina cerebral es abrumadora. Sin embargo, existen ciertos hallazgos que empañan a la "hipótesis colinérgica" y generan serias dudas respecto a su validez. Por ejemplo, se han encontrado disminuciones en las concentraciones cerebrales de dopamina, noradrenalina y serotonina en pacientes con Alzheimer (Hardy y cols., 1985; Rossor e Iversen, 1986) de las cuales se desconoce la importancia en la generación de las deficiencias intelectuales. Por otro lado, todos los estudios realizados en el cerebro de pacientes con Alzheimer son, naturalmente, post mortem y, por lo tanto, de naturaleza correlacional. Es decir, no se pueden establecer relaciones causales en las que la degeneración de las células colinérgicas del NBM produce la demencia o viceversa. Más aún, no se ha logrado establecer si la degeneración del NBM es secundaria a alguna alteración en el funcionamiento cortical (el cese de la producción de algún factor trófico, por ejemplo) o si es independiente de la corteza.

Dadas estas inmensas lagunas en el conocimiento de la enfermedad, la utilidad de los modelos animales es relativa. En

primer lugar, las pruebas conductuales que se han estudiado tras la lesión del NBM no tienen paralelo entre las que se han estudiado en el humano y, por lo tanto, pueden ser manifestación de un fenómeno completamente diferente como alteraciones en la atención (la cual no es afectada en el Alzheimer; Collerton, 1986). Aún el uso de animales viejos en los que se observan deficiencias en el aprendizaje (Dean y Bartus, 1987; Dunnett, 1990) y que, en teoría, son modelos más cercanos a lo que en realidad sucede durante el Alzheimer debe tomarse con reservas pues la presencia de placas seniles, considerada como una característica propia de la enfermedad, no ha sido demostrada en el cerebro de estos animales, además de que presentan alteraciones en otros sistemas de neurotransmisión (Dunnett, 1990).

Por otra parte, el uso de neurotoxinas para producir la lesión implica la muerte de las células del NBM. El hallazgo de que las alteraciones conductuales observadas en ratas viejas son revertidas con la infusión intraventricular del factor de crecimiento de nervios (Fischer y cols., 1987) indica que la degeneración del NBM no implica la muerte celular y que la presencia de un factor trófico puede rescatar a las neuronas no funcionales, sugiriendo a su vez una posible terapia para el padecimiento. Este resultado nunca ha sido obtenido en animales lesionados.

Estos son solamente algunos de los ejemplos que debilitan al uso de la lesión del NBM como herramienta para entender a la enfermedad de Alzheimer. Los resultados de este trabajo tienen relevancia en este punto pues el CAS es un paradigma de aprendizaje



que sí se ha demostrado en el humano (Logue, 1985). A la fecha, nadie ha descrito que los pacientes con Alzheimer sufran alguna deficiencia en la adquisición del CAS, lo cual resulta una posibilidad interesante.

En conclusión, el valor de la "hipótesis colinérgica" y el de la lesión del NBM como modelo para estudiar a la enfermedad de Alzheimer no reside en si resultan cierta o falsa o adecuado o inadecuado, sino en la cantidad de investigación que han generado al respecto y que, indiscutiblemente, han ayudado a comprender a esta patología en particular y al funcionamiento del cerebro en general.

## REFERENCIAS

- Aleksanyan, Z. A., Buresova, O., y Bures, J. Modification of unit responses to gustatory stimuli by conditioned taste aversion in rats. Physiol. Behav. 17: 173-179 (1976).
- Anand, B. K. Nervous regulation of food intake. Physiol. Rev. 41: 677-701 (1961).
- Anand, B. K. y Brobeck, J. R. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. Yale J. Biol. Med. 24: 123-133 (1951).
- Andersson, B. Receptors subserving hunger and thirst. En: Handbook of Sensory Physiology, Vol. III. Neil, E. (Ed.). Springer-Verlag, Berlín, 1972.
- Armstrong, S., Clarke, J. y Coleman, G. Light-dark variation in laboratory rat stomach and small intestine content. Physiol. Behav. 21: 785-788 (1978).
- Barnes, D. S. y Mrosovsky, N. Body weight regulation in ground squirrels and hypothalamicly lesioned rats: slow and sudden set point changes. Physiol. Behav. 12: 251-258 (1974).
- Bartus, R. T. y Johnson, H. R. Short-term memory in the rhesus monkey: disruption by the anti-cholinergic scopolamine. Pharmacol. Biochem. Behav. 5: 39-46 (1976).
- Bartus, R. T., Dean, R. L. y Beer, B. An evaluation of drugs for improving memory in aged monkeys. Implication for clinical trials in humans. Psychopharmacol. Bull. 19: 168-184 (1983).
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B. y Lippa, A. S. The cholinergic hypothesis of geriatric memory disfunction. Science 217: 408-417 (1982).

- Bartus, R. T., Flicker, C., Dean, R. L., Pontecorvo, M., Figueirido, J. y Fisher, S. K. Selective memory loss following nucleus basalis lesions: long-term behavioral recovery despite persistent cholinergic deficiencies. Pharmacol. Biochem. Behav. 23: 125-135 (1985).
- Baskin, D. G., Figlewicz, D. P., Woods, S. C., Porte Jr., D. y Dorsa, D. M. Insulin in the brain. Annu. Rev. Physiol. 49: 335-347 (1987).
- Berk, M. L. y Finkelstein, J. A. Efferent connections of the lateral hypothalamic area of the rat: an autoradiographic investigation. Brain Res. Bull. 8: 511-526 (1982).
- Bermúdez-Rattoni, F. La integración neural de los hábitos alimenticios. Bol. Estud. Med. Biol. 34: 43-50 (1986).
- Bermúdez-Rattoni, F., Fernández, J., Sánchez, M. A., Aguilar-Roblero, R. y Drucker-Colín, R. Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning. Brain Res. 416: 147-152 (1987).
- Berthoud, H.-R. y Jeanrenaud, B. Acute hyperinsulinemia and its reversal by vagotomy after lesions of the ventral hypothalamus in anesthetized rats. Endocrinology 105: 146-151 (1979).
- Bigl, V., Woolf, N. J. y Butcher, L. L. Cholinergic projections from the basal forebrain to frontal, parietal, temporal, occipital and cingulate cortices: a combined fluorescent tracer and acetylcholinesterase analysis. Brain Res. Bull. 8: 727-749 (1982).
- Booth, D. A. Food-conditioned eating preferences and aversions with

- interoceptive elements: conditioned appetites and satieties. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 22-41 (1985).
- Borison, H. L. y Wang, S. C. Physiology and pharmacology of vomiting. Pharmacol. Rev. 5: 193-230 (1953).
- Brandes, J. S. Insulin induced overeating in the rat. Physiol. Behav. 18: 1095-1102 (1977).
- Braun, J. J., Kiefer, S. W. y Ouellet, J. V. Psychic ageusia in rats lacking gustatory neocortex. Exp. Neurol. 72: 711-716 (1981).
- Braun, J. J., Lasiter, P. S. y Kiefer, S. W. The gustatory neocortex of the rat. Physiol. Psychol. 10: 13-45 (1982).
- Braun, J. J., Slick, T. B. y Lorden, J. F. Involvement of gustatory neocortex in the learning of taste aversions. Physiol. Behav. 9: 637-641 (1972).
- Brower, L. P. y Fink, L. S. A natural toxic defense system: cardenolides in butterflies versus birds. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 171-188 (1985).
- Buijs, R. M. Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. Pathways to the limbic system, medulla oblongata and spinal cord. Cell Tiss. Res. 192: 423-435 (1978).
- Buresova, O., Bures, J. Bohdanecky, Z. y Weiss, T. Effect of atropine upon learning, extinction, retention and retrieval in rats. Psychopharmacologia 5: 255-263 (1964).
- Burton, M. J., Rolls, E. T. y Mora, F. Effects of hunger on the responses of neurons in the lateral hypothalamus to the sight

- and taste of food. Exp. Neurol. 51: 668-677 (1976).
- Cabanac, M. Physiological role of pleasure. Science 173: 1103-1107 (1971).
- Campfield, L. A., Brandon, P. y Smith, F. J. On-line continuous measurement of blood glucose and meal pattern in free-feeding rats: the role of glucose in meal initiation. Brain Res. Bull. 14: 605-616 (1985).
- Collerton, D. Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. Neuroscience 19: 1-28 (1986).
- Coyle, J. T., Price, D. L. y DeLong, M. R. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. Science 219: 1184-1190 (1983).
- Chambers, K. C. A neural model for conditioned taste aversions. Annu. Rev. Neurosci. 13: 373-385 (1990).
- Chang, F.-C. T. y Scott, T. R. Conditioned taste aversions modify neural responses in the rat nucleus tractus solitarius. J. Neurosci. 4: 1850-1862 (1984).
- Chen, M., Woods, S. C. y Porte Jr., D. Effect of cerebral intraventricular insulin on pancreatic insulin secretion in the dog. Diabetes 24: 910-914 (1975).
- Crow, T. J. Action of hyoscine on verbal learning in man: evidence for a cholinergic link in the transition from primary to secondary memory. En: Brain Mechanisms in Memory and Learning: from the Single Neuron to Man. Brazier, M. A. B. (Ed.). Raven Press, Nueva York, 1979.
- Dallman, M. F. Viewing the ventromedial hypothalamus from the

- adrenal gland. Am. J. Physiol. 236: R1-R12 (1984).
- Daly, H. B. Disruptive effects of scopolamine on fear conditioning and on instrumental escape learning. J. Comp. Physiol. Psychol. 66: 579-583 (1968).
- Davies, P. y Maloney, A. J. F. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease Lancet 2: 1403 (1976).
- Dean, R. L. y Bartus, R. T. Behavioral models of aging in non human primates. En: Handbook of Psychopharmacology, Vol. 20. Iversen, L. L., Iversen, S. D. y Snyder, S. H. (Eds.). Plenum Press, Londres, 1987.
- De Jong, A., Strubbe, J. H. y Steffens, A. B. Hypothalamic influence on insulin and glucagon release in the rat. Am. J. Physiol. 233: E380-E388 (1977).
- DeLong, M. R. Activity of pallidal neurons during movement. J. Neurophysiol. 34: 414-427 (1971).
- Di Lorenzo, P. M. Long-delay learning in rats with parabrachial pontine lesions. Chem. Senses 13: 219-229 (1988).
- Domjan, M. Poison-induced neophobia in rats: role of stimulus generalization of CTA. Anim. Learn. Behav. 3: 205-211 (1975).
- Dubois, B., Mayo, W., Agid, Y., LeMoal, M. y Simon, H. Profound disturbances of spontaneous and learned behaviours following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. Brain Res. 338: 249-258 (1985).
- Dundee, J. W. y Pandit, S. K. Anterograde amnesic effects of petidine, hyoscine and diazepam in adults. Br. J. Pharmacol.

44: 140-144 (1972).

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

Dunnett, S. B. Comparative effects of cholinergic drugs and lesions of nucleus basalis or fimbria-fornix on delayed matching in rats. Psychopharmacology 87: 357-363 (1985).

Dunnett, S. B. Neural transplantation in animal models of dementia. Eur. J. Neurosci. 2: 567-587 (1990).

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

Dunnett, S. B., Wishaw, I. Q., Jones, G. H. y Bunch, S. T. Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rats. Neuroscience 20: 653-669 (1987).

Dunnett, S. B., Rogers, D. C. y Jones, G. H. Effects of nucleus basalis magnocellularis lesions in rats on delayed matching and non-matching to position tasks. Eur. J. Neurosci. 1: 395-406 (1989).

El-Defrawy, S., Coloma, F., Jhamandas, K., Boegman, R., Benninger, R. y Wirsching, B. Functional and neurochemical cortical

- cholinergic impairment following neurotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. Neurobiol. Aging 6: 325-330 (1985).
- Ellins, S. R., Catalano, S. M. y Schechinger, S. A. Conditioned taste aversions: A field application to coyote predators on sheep. Behav. Biol. 20: 91-95 (1977).
- Escobar, M., Fernández, J., Guevara-Aguilar, R. y Bermúdez-Rattoni, F. Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesions. Brain Res. 478: 364-374 (1989).
- Everitt, B. J., Robbins, T. W., Evenden, J. L., Marston, H. M., Jones, G. H. y Sirkiä, T. E. The effects of excitotoxic lesions of the substantia innominata, ventral and dorsal globus pallidus on the acquisition and retention of a conditional visual discrimination: implication for cholinergic hypotheses of learning and memory. Neuroscience 22: 441-469 (1987).
- Fernández-Ruiz, J., Escobar, M. L., Piña, A. L., Díaz-Cintra, S., Cintra-McGlone, F. L. y Bermúdez-Rattoni, F. Time-dependent recovery of taste aversion learning by fetal brain transplants in gustatory neocortex-lesioned rats. Behav. Neural Biol. 55: 179-193 (1991).
- Fine, A. Dunnett, S. B., Björklund, A. e Iversen, S. D. Cholinergic ventral cortex grafts into the neocortex improve passive avoidance memory in a rat model of Alzheimer's disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82: 5227-5230 (1985a).



- Fine, A. Dunnett, S. B., Björklund, A. e Iversen, S. D. Transplantation of embryonic ventral forebrain neurons to the neocortex of rats with lesions of the nucleus basalis magnocellularis. I. Biochemical and anatomical observations. Neuroscience 16: 769-786 (1985b).
- Fischer, W., Wictorin, K., Björklund, A., Williams, L. R., Varon, S. y Gage, F. H. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. Nature 329: 65-68 (1987).
- Fisher, A., Mantione, C. R., Abraham, D. J. y Hanin, I. Long-term central cholinergic hypofunction induced in mice by ethylcholine aziridinium ion (AF64A) in vivo. J. Pharmac. Exp. Ther. 222: 140-145 (1982).
- Flicker, C., Dean, R. L., Watkins, D. L., Fisher, S. K. y Bartus, R. T. Behavioural and neurochemical effects following neurotoxic lesions of a major cholinergic input to the neocortex of the rat. Pharmacol. Biochem. Behav. 18: 973-981 (1983).
- Flood, J. F., Smith, G. E. y Cherkin, A. Memory enhancement: supra-additive effects of subcutaneous cholinergic drug combinations in mice. Psychopharmacology 86: 61-67 (1985).
- Friedman, E., Lerer, B. y Kuster, J. Loss of cholinergic neurons in the rat neocortex produces deficits in passive avoidance learning. Pharmacol. Biochem. Behav. 19: 309-312 (1983).
- Frohman, L. A. y Bernardis, L. L. Effect of hypothalamic stimulation on plasma glucose, insulin and glucagon levels.

- Am. J. Physiol. 221: 1596-1603 (1971).
- Fulwiler, C. E. y Saper, C. B. Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. Brain Res. Rev. 7: 229-259 (1984).
- García, J., Ervin, F. R. y Koelling, R. A. Learning with prolonged delay of reinforcement. Psychon. Sci. 5: 121-122 (1966).
- García, J. y Koelling, R. A. Relation of the cue to consequence in avoidance learning. Psychon. Sci. 5: 123-124 (1966).
- García, J., Lasiter, P. S., Bermúdez-Rattoni, F. y Deems, D. A. A general theory of aversion learning. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 8-21 (1985).
- Gaston, K. E. An illness-induced conditioned aversion in domestic chick: one-trial learning with a long delay of reinforcement. Behav. Biol. 20: 441-453 (1977).
- Giza, B. K. y Scott, T. R. Blood glucose selectively affects taste-evoked activity in rat nucleus tractus solitarius. Physiol. Behav. 31: 643-650 (1983).
- Glenn, J. F. y Erickson, R. P. Gastric modulation of gustatory afferent activity. Physiol. Behav. 16: 561-568 (1976).
- Glick, S. D., Mittag, T. W. y Green, J. P. Central cholinergic correlates of impaired learning. Neuropharmacology 12: 291-296 (1973).
- Gorry, J. D. Studies on the comparative anatomy of the ganglion basale of Meynert. Acta Anat. 55: 51-104 (1963).
- Gould, M. N. y Yatvin, M. B. Atropine-caused central nervous system interference with radiation-induced learned and unlearned

- behaviours. Int. J. Radiat. Biol. 24: 463-468 (1973).
- Gray, J. y McNaughton, N. Comparison between the behavioural effects of septal and hippocampal neurons: a review. Neurosci. Biobehav. Rev. 7: 119-188 (1983).
- Grill, H. J. Physiological mechanisms in conditioned taste aversions. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 67-88 (1985).
- Grill, H. J. y Norgren, R. The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. Brain Res. 143: 281-297 (1978a).
- Grill, H. J. y Norgren, R. Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. Science 201: 267-269 (1978b).
- Halter, J. B., Beard, J. C. y Porte, D. Islet function and stress hyperglycemia: plasma glucose and epinephrine interaction. Am. J. Physiol. 247: E47-E52 (1984).
- Hamburg, M. D. Retrograde amnesia produced by intraperitoneal injection of physostigmine. Science 130: 973-974 (1967).
- Hardy, J., Adolfsson, R., Alafuzoff, I., Bucht, G., Marcusson, J., Nyberg, P., Perdahl, E., Wester, P. y Winblad, B. Transmitter deficits in Alzheimer's disease. Neurochem. Int. 7: 545-563 (1985).
- Haroutunian, V., Barnes, E. y Davis, K. L. Cholinergic modulation of memory in rats. Psychopharmacology 87: 266-271 (1985).
- Hawkins, R. D., Abrams, T. W., Carew, T. J. y Kandel, E. R. A cellular mechanism of classical conditioning in Aplysia: activity-dependent amplification of presynaptic facilitation. Science 219: 400-405 (1983).

Hearst, E. Effects of scopolamine on discriminated responding in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther. 126: 349-358 (1959).

Hebb, C. O., Krnjevic, K. y Silver, A. Effect of undercutting on the acetylcholinesterase and choline acetyltransferase activity in the cat's cerebral cortex. Nature 198: 692-694 (1963).

Hepler, D. J., Wenk, G. J., Cribbs, B. L., Olton, D. S. y Coyle, J. T. Memory impairments following basal forebrain lesions. Brain Res. 346: 8-14 (1985).

Hermann, G. E. y Rogers, R. C. Convergence of vagal and gustatory afferent input within the parabrachial nucleus of the rat. J. Autonom. Nerv. Syst. 13: 1-17 (1985).

Hetherington, A. W. y Ranson. S. W. Hypothalamic lesions and adiposity in rats. Anat. Rec. 78: 149-172 (1940).

Iguchi, A., Burleson, P. D. y Szabo, A. J. Decrease in plasma glucose concentration after microinjection of insulin into the VMH. Am. J. Physiol. 240: E95-E100 (1981).

Johnston, M. V., McKinney, M. y Coyle, J. T. Evidence for a cholinergic projection to neocortex from neurons in basal forebrain. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76: 5392-5396 (1979).

Jones, E. G., Burton, H., Saper, C. B. y Swanson, L. W. Midbrain, diencephalic and cortical relationships of the basal nucleus of Meynert and associated structures in primates. J. Comp. Neurol. 167: 385-420 (1976).

Kesner, R. P. y DiMattia, B. V. Neurobiology of an attribute model of memory. En: Progress in Psychobiology and Physiological

Psychology 12. Epstein, A. N. y Morrison, A. (Eds.). Academic Press, Nueva York, 1987.

Kesner, R. P., Crutcher, K. A. y Omana, H. Memory deficits following nucleus basalis magnocellularis lesions may be mediated through limbic, but not neocortical, targets. Neuroscience 38: 93-102 (1990).

Kiefer, S. W. Neural mediation of conditioned food aversions. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 100-109 (1985).

Kita, H. y Oomura, Y. An HRP study of the afferent connections to the rat medial hypothalamic region. Brain Res. Bull. 8: 53-62 (1982a).

Kita, H. y Oomura, Y. An HRP study of the afferent connections to the rat lateral hypothalamic region. Brain Res. Bull. 8: 63-71 (1982b).

Kosar, E., Grill, H. J. y Norgren, R. Gustatory cortex of the rat. I. Physiological properties and cytoarchitecture. Brain Res. 379: 329-341 (1986a).

Kosar, E., Grill, H. J. y Norgren, R. Gustatory cortex of the rat. II. Thalamocortical projections. Brain Res. 379: 342-352 (1986b).

Kriekhaus, E. E. y Wolf, G. Acquisition of sodium by rats: interaction of innate mechanisms and latent learning. J. Comp. Physiol. Psychol. 65: 197-201 (1968).

Krieger, M. S., Conrad, L. C. A. y Pfaff, D. W. An autoradiographic study of the efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. J. Comp. Neurol. 183: 785-816 (1979).

- Lasiter, P. S. Thalamocortical relations in taste aversion learning: II. Involvement of the medial ventrobasal thalamic complex in taste aversion learning. Behav. Neurosci. 99: 477-495 (1985).
- Lasiter, P. S., Deems, D. A. y Glanzman, D. L. Thalamocortical relations in taste aversion learning: I. Involvement of gustatory thalamocortical projections in taste aversion learning. Behav. Neurosci. 99: 454-476 (1985).
- Lasiter, P. S. y Glanzman, D. L. Cortical substrates of taste aversion learning: dorsal prepiriform (insular) lesions disrupt taste aversion learning. J. Comp. Physiol. Psychol. 96: 376-392 (1982).
- Lasiter, P. S. y Glanzman, D. L. Cortical substrates of taste aversion learning: involvement of the dorsolateral amygdaloid nuclei and the temporal neocortex in taste aversion learning. Behav. Neurosci. 99: 257-276 (1985).
- Lehmann, J., Nagy, J., Atmadja, S. y Fibiger, H. C. The nucleus basalis magnocellularis: the origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat. Neuroscience 5: 1161-1174 (1980).
- Leibowitz, S. F. Paraventricular nucleus: a primary site mediating adrenergic stimulation of feeding and drinking. Pharmacol. Biochem. Behav. 8: 163-175 (1978).
- Lénárd, L., Hahn, Z. y Karádi, Z. Body weight changes after neurochemical manipulations of lateral amygdala: noradrenergic and dopaminergic mechanisms. Brain Res. 249: 95-101 (1982).

- Lerer, B., Warner, J., Friedman, E., Vincent, G. y Gamzu, E. Cortical cholinergic impairment and behavioural deficits produced by kainic acid lesions of rat magnocellular basal forebrain. Behav. Neurosci. 99: 661-677 (1985).
- Logue, A. W. Conditioned food aversion learning in humans. Ann. N. Y. Acad. Sci. 443: 316-329 (1985).
- López-García, J. C., Bermúdez-Rattoni, F. y Tapia, R. Release of acetylcholine,  $\gamma$ -aminobutyrate, dopamine and glutamate, and activity of some related enzymes, in rat gustatory neocortex. Brain Res. 523: 100-104 (1990a).
- López-García, J. C., Fernández-Ruiz, J., Bermúdez-Rattoni, F. y Tapia, R. Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. Brain Res. 523: 105-110 (1990b).
- Lorden, J. F. Effects of lesions of the gustatory neocortex on taste aversion learning in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol. 90: 665-679 (1976).
- Loullis, C. C., Wayner, M. J. y Jolicoeur, F. B. Thalamic taste nuclei lesions and taste aversion learning. Physiol. Behav. 20: 653-655 (1978).
- Luiten, P. G. M., y Room, P. Interrelations between lateral, dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei in the rat. An HRP study. Brain Res. 190: 321-332 (1980).
- Luiten, P. G. M., ter Horst, G. J. y Steffens, A. B. The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and

- metabolism. Prog. Neurobiol. 28: 1-54 (1987).
- Mantyh, P. W. y Hunt, S. P. Neuropeptides are present in projection neurones at all levels in visceral and taste pathways: from periphery to sensory cortex. Brain Res. 299: 297-311 (1984).
- Matsuo, R., Shimizu, N. y Kusano, K. Lateral hypothalamic modulation of oral sensory afferent activity in nucleus tractus solitarius neurons of rats. J. Neurosci. 4: 1201-1207 (1984).
- McCormick, D. A. y Prince, D. A. Mechanisms of action of acetylcholine in the guinea-pig cerebral cortex in vitro. J. Physiol. 375: 169-194 (1986).
- Mesulam, M.-M., y Mufson, E. J. Neural inputs into the nucleus basalis of the substantia innominata (Ch4) in the rhesus monkey. Brain 107: 253-274 (1984).
- Mesulam, M.-M., Mufson, E. J., Levey, A. I. y Wainer, B. H. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata) and hypothalamus in the rhesus monkey. J. Comp. Neurol. 214: 170-197 (1983a).
- Mesulam, M.-M., Mufson, E. J., Wainer, B. H. y Levey, A. I. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). Neuroscience 10: 1185-1201 (1983b).
- Moltz, J. C., Samson, W. K., Dobbs, R. E. y Fawcett, C. P. Hypothalamic lesions in the weanling rat after pancreatic



- response to glucose. Brain Res. Bull. 13: 673-677 (1984).
- Mora, F., Rolls, E. T. y Burton, M. J. Modulations during learning of the responses of neurons in the lateral hypothalamus to the sight of food. Exp. Neurol. 53: 508-519 (1976).
- Mrosovsky, N. Rheostasis: the physiology of change. Oxford University Press, Nueva York, 1990.
- Mrosovsky, N. y Sherry, D. F. Animal anorexias. Science 207: 837-842 (1980).
- Norgren, R. Projections from the nucleus of the solitary tract in the rat. Neuroscience 3: 207-218 (1978).
- Norgren, R. y Leonard, C. M. Ascending central gustatory connections. J. Comp. Neurol. 150: 217-238 (1973).
- Ogawa, H. y Kaisaku, J. Physiological characteristics of the solitario-parabrachial relay neurons with tongue afferent inputs in rats. Exp. Brain. Res. 48: 362-368 (1982).
- Ono, T., Nishino, H., Fukuda, M., Sasaki, K. y Nishino, H. Single neuron activity in dorsolateral prefrontal cortex of monkey during operant behavior sustained by food reward. Brain Res. 311: 323-332 (1984).
- Ozeki, M. y Sato, M. Responses of gustatory cells in the tongue of rats to stimuli representing four taste qualities. Comp. Biochem. Physiol. 41A: 391-407 (1972).
- Pazzagli, A. y Pepeu, G. Amnesic properties of scopolamine and brain acetylcholine in the rat. Int. J. Neuropharmacol. 4: 291-299 (1964).
- Price, J. L. y Amaral, D. G. An autoradiographic study of the

- projections of the central nucleus of the monkey amygdala. J. Neurosci. 1: 1242-1259 (1981).
- Richardson, R. T. y DeLong, M. R. Nucleus basalis of Meynert neuronal activity during a delayed response task in monkey. Brain Res. 399: 364-368 (1986).
- Richardson, R. T. y DeLong, M. R. A reappraisal of the functions of the nucleus basalis of Meynert. Trends Neurosci. 11: 264-267 (1988).
- Rick, J. T., Whittle, K. L. y Cross, S. H. Disruption and facilitation of cue discrimination in the rat by cholinergic agents. Neuropharmacology 20: 747-752 (1981).
- Ridley, R. M., Barratt, N. G. y Baker, H. F. Cholinergic learning deficits produced by scopolamine and ICV hemicholinium. Psychopharmacology 83: 340-345 (1984).
- Rossor, M. N. e Iversen, L. L. Non-cholinergic transmitter abnormalities in Alzheimer's disease. Br. Med. Bull. 42: 70-74 (1986).
- Rusiniak, K. W., Palmerino, C. C., Rice, A. G., Forthman, D. L. y García, J. Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste with toxin but not shock in rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 96: 527-539 (1982).
- Safer, D. J. y Allen, R. P. The central effects of scopolamine in the man. Biol. Psychiat. 3: 347-355 (1971).
- Saper, C. B. Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. I. Magnocellular basal nucleus. J. Comp. Neurol. 222: 313-342 (1984).

- Saper, C. B., Swanson, L. W. y Cowan, W. M. The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat. J. Comp. Neurol. 169: 409-442 (1976).
- Saper, C. B., Swanson, L. W. y Cowan, W. M. Some efferent connections of the rostral hypothalamus in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) and cat. J. Comp. Neurol. 184: 205-242 (1979).
- Sarter, M. y Markowitsch, H. J. Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations. Behav. Neurosci. 99: 342-380 (1985).
- Sato, M. y Beidler, L. M. The response characteristics of rat taste cells to four basic taste stimuli. Comp. Biochem. Physiol. 73A: 1-10 (1982).
- Sato, M. y Beidler, L. M. Dependence of gustatory neural response on depolarizing and hyperpolarizing receptor potentials of taste cells in the rat. Comp. Biochem. Physiol. 75A: 131-137 (1983).
- Sawchenko, P. E. y Swanson, L. W. Central noradrenergic pathways for the integration of hypothalamic neuroendocrine and autonomic responses. Science 214: 685-687 (1981).
- Sawchenko, P. E. y Swanson, L. W. The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. J. Comp. Neurol. 218: 121-144 (1983).
- Schmidt, R. F. Thirst and hunger: general sensations. En: Human Physiology, Second Edition. Schmidt, R. F. y Thews, G. (Eds.). Springer-Verlag, Berlín, 1989.

- Schwartzbaum, J. S. Electrophysiology of taste-mediated functions in parabrachial nuclei of behaving rabbit. Brain Res. Bull. 11: 61-89 (1983).
- Shapiro, R. E. y Miselis, R. R. An afferent projection from the area postrema and the caudal medial nucleus of the solitary tract to the parabrachial nucleus in the rat. Neurosci. Abstr. 8: 269 (1982).
- Sherry, D. F., Mrosovsky, N. y Hogan, J. A. Weight loss and anorexia during incubation in birds. J. Comp. Physiol. Psychol. 94: 89-98 (1980)
- Shiple, M. T. y Sanders, M. S. Special senses are really special: evidence for a reciprocal, bilateral pathway between insular cortex and nucleus parabrachialis. Brain Res. Bull. 8: 493-501 (1982).
- Sillito, A. M. y Kemp, J. A. Cholinergic modulation of the functional organization of the cat visual cortex. Brain Res. 289: 143-155 (1983).
- Sitaram, N., Weintgarner, H. y Gillin, J. C. Human serial learning: enhancement with arecoline and choline and impairment with scopolamine. Science 201: 274-276 (1978).
- Smith, G. Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. Brain Res. Rev. 13: 103-118 (1988).
- Steffens, A. B. The modulatory effect of the hypothalamus on glucagon and insulin secretion in the rat. Diabetologia 20: 411-416 (1981).
- Steffens, A. B., Scheurink, A. J. W., Porte Jr., D. y Woods, S. C.

- Penetration of peripheral glucose and insulin into cerebrospinal fluid in rats. Am. J. Physiol. 255: R200-R204 (1988).
- Steffens, A. B., Strubbe, J. H., Balkan, B. y Scheurink, A. J. W. Neuroendocrine mechanisms involved in regulation of body weight, food intake and metabolism. Neurosci. Biobehav. Rev. 14: 305-313 (1990).
- Steinbaum, E. A. y Miller, N. E. Obesity from eating elicited by stimulation of the hypothalamus. Am. J. Physiol. 208: 1-5 (1965).
- Sutherland, R. J., Whishaw, I. Q. y Regehr, J. C. Cholinergic receptor blockade impairs spatial localisation by use of distal cues in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol. 96: 563-573 (1982).
- Swanson, L. W. y McKellar, S. The distribution of oxytocin and neurophysin-stained fibers in the spinal cord of the rat and monkey. J. Comp. Neurol. 188: 87-106 (1979).
- Travers, J. B. y Norgren, R. Afferent projections to the oral motor nuclei in the rat. J. Comp. Neurol. 220: 280-298 (1983).
- Travers, J. B., Travers, S. P. y Norgren, R. Gustatory neural processing in the hindbrain. Annu. Rev. Neurosci. 10: 595-632 (1987).
- Travers, S. P., Pfaffmann, C. y Norgren, R. Convergence of lingual and palatal gustatory neural activity in the nucleus of the solitary tract. Brain Res. 365: 305-320 (1986).
- Van Buskirk, R. L. y Erickson, R. P. Odorant responses in taste

- neurons of the rat NTS. Brain Res. 135: 287-303 (1977).
- van der Kooy, D., Koda, L. Y., McGinty, J. F., Gerfen, C. R. y Bloom, F. E. The organization of projections from the cortex, amygdala, and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract in rat. J. Comp. Neurol. 214: 198-208 (1984).
- Van der Gugten, J. y Slangen, J. J. Release of endogenous catecholamines from rat hypothalamus in vivo related to feeding and other behaviors. Pharmacol. Biochem. Behav. 7: 211-219 (1977).
- Walters, E. T. y Byrne, J. H. Associative conditioning of single sensory neurons suggests a cellular mechanism for learning. Science 219: 405-408 (1983).
- Whishaw, I. Q., O'Connor, W. T. y Dunnett, S. B. Disruption of central cholinergic mechanisms in the rat by basal forebrain lesion or atropine: effects on feeding, sensorimotor behaviour, locomotor activity and spatial navigation. Behav. Brain. Res. 17: 103-115 (1985).
- Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T. y DeLong, M. R. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. Science 215: 1237-1239 (1982).
- Wiepkema, P. R. Positive feedbacks at work during feeding. Behaviour 39: 266-273 (1971).
- Woods, S. C., Lotter, E. C., McKay, L. D. y Porte Jr., D. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. Nature 282: 503-505 (1979).

- Yamamoto, T., Azuma, S. y Kawamura, Y. Significance of cortical-amygdalar-hypothalamic connections in retention of conditioned taste aversion in rats. Exp. Neurol. 74: 758-768 (1981).
- Yamamoto, T. y Kawamura, Y. Physiological characterization of cortical taste area. En: Olfaction and taste VI. Le Magnen, J y MacLeod, P. (Eds.). Information Retrieval, Londres, 1977.
- Yirmiya, R., Zhou, F. C., Holder, M. D., Deems, D. A. y García, J. Partial recovery of gustatory function after neural tissue transplantation to the lesioned gustatory neocortex. Brain Res. Bull. 20: 619-625 (1988).