

RECEPTORES DOPAMINERGICOS Y AUTOESTIMULACION
EN LA CORTEZA PREFRONTAL DE LA RATA.

José Manuel Rodríguez Ferrer

Granada, Junio 1981.

Don Carlos Osorio Pelaez, Catedrático de Fisiología General, Química Biológica y Fisiología Especial y Don Francisco Mora Teruel, Profesor Adjunto de Fisiología - General y Fisiología Especial de la Facultad de Medicina de Granada, declaran que la Tesina "Receptores dopaminérgicos y autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata" que presenta D. José Manuel Rodríguez Ferrer para optar al grado de Licenciado en Medicina y Cirugía - ha sido realizada bajo su dirección.

Granada 25 de Junio de 1981.

J. Pelaez

(Mora)

Mi agradecimiento a:

D. Carlos Osorio Peláez, por la oportunidad que me ha brindado de trabajar en su equipo de investigación.

D. Francisco Mora Teruel, por la inestimable ayuda de de dicada así como por la continua supervisión de esta Tesina.

En general, a todos los miembros del Laboratorio por la incondicional ayuda que me han prestado.

Esta Tesina ha sido realizada íntegramente en el Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

A mi familia

INTRODUCCION

A) LA AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL : GENERALIDADES.....	1
A-1) Estructuras cerebrales que soportan autoestimulación intracraneal.....	2
B) FUNDAMENTOS NEUROFARMACOLOGICOS Y NEUROQUIMICOS DE LA AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL.....	3
B-1) Dopamina.....	4
B-2) Noradrenalina.....	5
B-3) Acetilcolina.....	7
B-4) Serotonina.....	10
B-5) Péptidos.....	11
C) DOPAMINA Y AUTOESTIMULACION EN LA CORTEZA PREFRONTAL DE LA RATA.....	12
C-1) La corteza prefrontal.....	12
C-2) Inervación catecolaminérgica de la corteza prefrontal.....	16
C-3) La dopamina como posible neurotransmisor de la conducta de autoestimulación intracraneal en la corteza prefrontal medial de la rata.....	18
D) DIFERENTES TIPOS DE RECEPTORES DOPAMINERGICOS.....	25
D-1) Evidencias experimentales que soportan la hipótesis de la existencia de diferentes	

tipos de receptores dopaminérgicos en el.....	26
sistema nervioso central	
1) Experiencias histoquímicas.....	26
2) Experiencias electrofisiológicas.....	27
3) Experiencias farmacológicas.....	28
4) Experiencias bioquímicas.....	29
D-2) Receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 y	
corteza prefrontal.....	33
E) RESUMEN Y PLANTEAMIENTO.....	35

MATERIAL Y METODOS

1) ANIMALES.....	38
2) SUSTANCIAS QUIMICAS.....	38
3) APARATOS.....	39
4) PROCEDIMIENTOS.....	40
4-1) Realización de implantes con electrodos.....	40
4-2) Realización con implantes con electrodos	
y cánulas.....	41
4-3) Procedimiento quirúrgico de aplicación	
de los implantes en la rata.....	44
4-4) Métodos de conducta : esquema de entre-	
namiento de las ratas.....	46
a) Registro de la motilidad espontánea.....	46
b) Estimulación eléctrica cerebral.....	47

b-1) Entrenamiento para la obtención de la conducta de autoestimulación.....	52
c) Estimulación química del cerebro.....	56
5) HISTOLOGIA.....	57
6) ESTADISTICA.....	61
a) Análisis de la varianza doble con un solo ele mento por casilla.....	61
b) Test de Dunnet.....	63
7) DETALLE DE LA METODOLOGIA SEGUIDA EN CADA UNO DE LOS EXPERIMENTOS DE ESTA TESINA.....	63

RESULTADOS

Tablas y gráficas.....	72
------------------------	----

DISCUSION

A) INTRODUCCION.....	112
B) SOBRE LOS RECEPTORES D_1 Y LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA.....	114
C) SOBRE LOS RECEPTORES D_2 Y LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA.....	124
D) SUMARIO.....	128

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES..... 131

BIBLIOGRAFIA

Indice de autores citados, ordenados alfabética-
mente..... 133

INTRODUCCION

A) LA AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL : GENERALIDADES

El fenómeno de la autoestimulación intracraneal o cerebral descubierto accidentalmente por OLDS y MILNER en 1954, ha servido de base para el conocimiento y comprensión de los procesos de recompensa central y mecanismos de refuerzo.

La autoestimulación intracraneal consiste en la realización por parte del animal de una respuesta operativa con el fin de obtener estimulación eléctrica de su cerebro, a través de unos electrodos intracerebrales crónicamente implantados. (Fibiger, 1978; Wauquier y Rolls, 1976).

La autoestimulación eléctrica intracraneal se ha demostrado en diversas especies animales incluido el hombre. Inicialmente fue en la rata (Olds y Milner, 1954), y sucesivamente en gatos (Roberts, 1958), monos (Brady, 1960) peces (Boyd y Gardner, 1962), delfín (Lilly y Milner, 1962), perro (Stark y Boyd, 1963), aves (Goodman y Bown, 1966), conejo (Bruner, 1966). Sam-Jacobsen y Torkildsen en 1960 y Elder y Heath en 1963, demostraron autoestimulación en el hombre.

No obstante, la mayor parte de los trabajos realizados en relación con la conducta de autoestimulación intracraneal, han sido llevados a cabo en la rata (Wauquier y Rolls, 1976).

A-1) ESTRUCTURAS CEREBRALES QUE SOPORTAN AUTOESTIMULACION INTRA-CRANEAL.

Gracias a los trabajos de mapeo realizados en el cerebro de rata y a las sucesivas revisiones de los mismos, llevadas a cabo por OLDS y OLDS (1965) y ROLLS (1974-75). Las áreas y estructuras cerebrales que soportan la autoestimulación intracranial en este animal, se hallan bastante bien definidas.

El área anatómica que soporta las mayores tasas de autoestimulación, (entendiendo por tales, la corriente mínima que produce la máxima respuesta), es el Hipotálamo, que se extiende a lo largo del rascículo presenfálico medial, desde la banda diagonal de Broca hasta el área ventrosegmental de TSAI en el mesencéfalo.

Otras áreas en las que se ha hallado autoestimulación cerebral en la rata han sido: núcleos septales (Olds, Travis y - Schwing, 1960), núcleo accumbens del septum (Routtenberg y Huang, 1968), hipocampo (Milgram, 1969), bulbo olfatorio (Phillips y Mogensson, 1969, Phillips, 1970), corteza cingulada (Brady y Conrad, 1960), amígdala (Hodos, 1965), y núcleo caudado (Olds, 1960; - Routtenberg, 1971; Phillips, Carter y Fibiger, 1976).

En cuanto a la corteza cerebral sólo se ha demostrado autoestimulación en la corteza prefrontal, en sus áreas sulcal y - medial (Routtenberg y Sloan, 1972; Routtenberg, 1971). Se han descrito además otras zonas de autoestimulación en el tronco en

cefálico que incluyen partes de la sustancia gris central (Cooper y Taylor, 1967), sustancia negra (Routtenberg y Malsbury, 1969), núcleo interpeduncular (área ventro tegmental del mesencéfalo) (Crow, 1971, 1972), dentro y cerca del núcleo coeruleus (Ritter y Stein, 1973). Recientemente también se ha demostrado autoestimulación en la región del núcleo trigémino (Van der Kooy y Phillips, 1977) y la corteza entorrinal (Collier y Routtenberg, 1977).

B) FUNDAMENTOS NEUROFARMACOLÓGICOS Y NEUROQUÍMICOS DE LA AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL

Uno de los aspectos desarrollados últimamente en el estudio del fenómeno de la autoestimulación cerebral, ha sido el describir los sustratos neuroquímicos de la autoestimulación. Es decir, el tratar de descubrir los posibles neurotransmisores que median dicha conducta.

Hasta ahora, las evidencias más sólidas favorecen únicamente a la dopamina como neurotransmisor envuelto en la autoestimulación cerebral. Sin embargo y en base, fundamentalmente, a estudios neurofarmacológicos, existen datos experimentales que sugieren la participación de otros neurotransmisores en este tipo de conducta. Estos son: La noradrenalina, la acetilcolina, la sero

tonina y el reciente grupo de los neuropéptidos.

Seguidamente, pasamos a describir el papel de estos neurotransmisores en la conducta de autoestimulación intracraneal.

B-1) DOPAMINA.

La dopamina, a diferencia de lo que ocurre con la noradrenalina, se halla más discretamente distribuida en el sistema nervioso central. Hoy son bien conocidas las vías dopaminérgicas en la rata (ver figura nº 1). Estas son: vía nigroestriatal, que originada en la sustancia negra proyecta al estriado. Vía mesolímbica originada en el área ventrotegmenal mesencefálica, que inerva de dopamina las estructuras límbicas, principalmente al núcleo accumbens y al tubérculo olfatorio. Y la vía mesocortical que originada en el área ventrotegmenal mesencefálica proyecta a la corteza prefrontal.

Hoy existe una base farmacológica fuerte que permite relacionar la dopamina y vías dopaminérgicas con la conducta de autoestimulación (Rolls et al., 1974; Mora et al., 1975; Mora, 1978). Así, se piensa que los efectos de la ^{de la cocaína} anfetamina sobre la misma, tienen un sustrato dopaminérgico. Por otro lado la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal, se reduce en un 30% cuando esta zona del neocórtex es deplecionada de dopamina, (Phillips y Fibiger, 1978). En apoyo de esta hipótesis está el hecho de la demostración de autoestimulación en el área ventrotegmen-

tal mesencefálica, área donde se hallan los cuerpos celulares do paminérgicos (Crow, 1973, 1972 a, b), que originan las vías an--
tes señaladas.

También se ha descrito que los neurolépticos, que son blo--
queantes específicos de los receptores dopaminérgicos, son poten--
tes inhibidores de la tasa de autoestimulación (Wauquier, 1978 y
Niemegeers, 1975; Mora y cols, 1975, 1976, 1977,).

No obstante el papel de la dopamina en la autoestimulación
intracraneal no es exclusivo, pues tal fenómeno ha sido hallado
en áreas exentas de dicho neurotransmisor.

A pesar de todo, la importancia de la dopamina en la conduc--
ta de autoestimulación está ampliamente admitida. Mayores deta--
lles serán expuestos en el apartado C de esta Tesina.

B-2) NORADRENALINA.

El fascículo presencefálico medial soporta tasas muy altas
de autoestimulación. Este hecho, junto con la observación de que
los axones noradrenérgicos se hallan localizados dentro del fas--
cículo presencefálico medial y de que la tasa de autoestimulación
del mismo es facilitada por la d-anfetamina, condujo a Stein a --
proponer la teoría de que estos axones noradrenérgicos son los --
responsables del fenómeno de la autoestimulación cerebral.

Hoy se conoce la existencia de 2 vías noradrenérgicas apa--

rentemente relacionadas con los sistemas de recompensa. Estas son: El fascículo noradrenérgico dorsal que originado en el locus coeruleus proyecta sus terminales sobre toda la corteza, hipocampo y cerebelo, y el fascículo noradrenérgico ventral, también originado en el locus coeruleus, este fascículo proyecta sus terminales en el hipotálamo, área preóptica y área septal, tálamo y subtálamo (ver figura nº 2).

En contraste con la teoría inicial de Stein, experimentos llevados a cabo en estas vías noradrenérgicas permitan demostrar que la noradrenalina no es un elemento básico en el mantenimiento de la conducta de autoestimulación (Clavier y Routtenberg, 1976). Lesiones electrolíticas del locus coeruleus que deplecionan de noradrenalina a la corteza en casi un 80%, no alteran la autoestimulación del fascículo noradrenérgico dorsal. Las lesiones de este fascículo con 5-hidroxi-dopamina, una neurotoxina específica de las neuronas catecolaminérgicas, tampoco afectan la autoestimulación del locus coeruleus (Clavier y cols., 1976). Similares resultados han sido obtenidos en el fascículo noradrenérgico ventral (citado en Tesis de Sanguinetti, 1979).

Por otro lado, los efectos que la d-anfetamina tenía sobre la tasa de autoestimulación en el fascículo presencefálico medial, pueden ser criticados desde el momento en que sabemos que esta droga, no sólo, afecta a la liberación de noradrenalina sino que también actúa sobre la dopamina (Clavier y Fibiger, 1977).

En resumen, la teoría inicial de Stein no es hoy sostenible. No obstante, queda la posibilidad de que el sistema nora-

drenérgico participe en la conducta de autoestimulación, si bien su acción no es ni exclusiva ni esencial.

B-3) ACETILCOLINA.

La acetilcolina ha sido hallada en zonas que soportan la autoestimulación intracraneal. Fármacos que actúan a nivel de los sistemas acetilcolinérgicos alteran la conducta de autoestimulación (Stark y Boyd, 1963), de ahí que se haya pensado en la acetilcolina como un posible neurotransmisor relacionado con tal comportamiento.

El hecho de que la fisostigmina, un inhibidor de la acetylcolinesterasa (enzima que hidroliza a la acetilcolina) inhibiera la autoestimulación, hizo pensar en que el sistema colinérgico tuviera una acción inhibitoria sobre ella (Jung y Boyd, 1966).

Hoy se conoce la existencia de dos tipos de receptores colinérgicos centrales: uno muscarínico y otro nicotínico. Habiéndose demostrado mayor número de los primeros en el sistema nervioso central.

Estudios experimentales sostienen la hipótesis de que los agonistas muscarínicos inhiben la autoestimulación, siendo este un efecto central, y de que los agonistas nicotínicos, tienen una acción compleja, depresora y estimuladora de la misma (Oida y Domino, 1969).

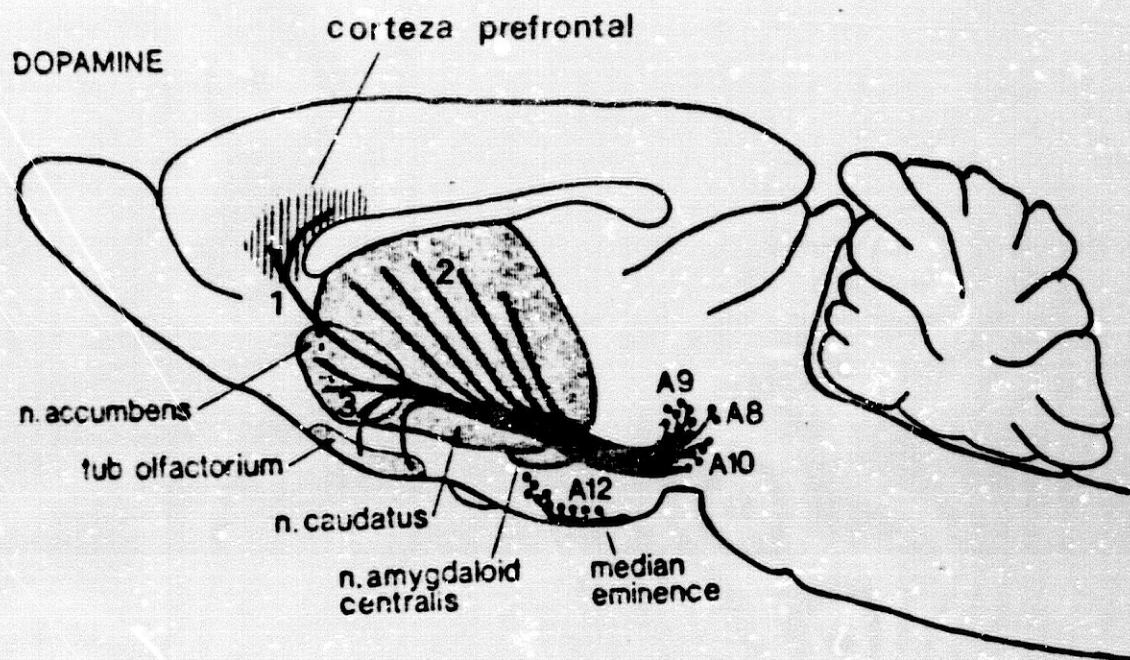


FIGURA 1

Representación de los núcleos de dopamina y de las vías dopamínicas ascendentes, originadas en ellos, en el cerebro de la rata. 1: vía mesocortical. 2: vía nigrostriatal. 3: vía mesolimbica. (modificada de Ungerstedt, 1971).

NORADRENALINE

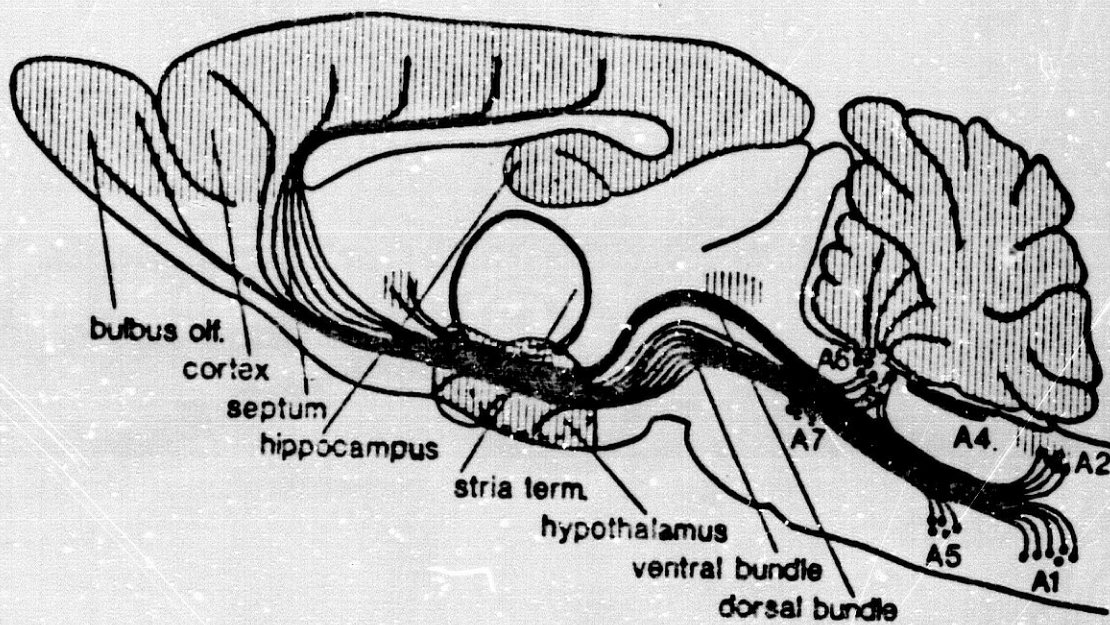


FIGURA 2

Representación de los núcleos de noradrenalina y de las vías noradrenérgicas ascendentes, originadas en ellos, en el cerebro de la rata. (Tomado de Ungerstedt, 1971).

Por otra parte, se supone que los efectos estimuladores nicotínicos bien pudieran estar mediados por la noradrenalina que paralelamente es liberada por ellos (Pradhan y Kamat, 1972).

Estudios realizados en nuestro laboratorio, han sugerido que la acetilcolina a través de los receptores muscarínicos juega un papel inhibitorio sobre la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata (Vives y cols, 1980; Mora y cols., 1980).

La acetilcolina puede ser por tanto, un neurotransmisor relacionado con la autoestimulación intracraneal, ejerciendo efectos inhibitorios sobre la misma, e involucrando fundamentalmente a los receptores muscarínicos.

B-4) SEROTONINA.

La serotonina, ha sido sugerida como un posible neurotransmisor inhibitorio de la autoestimulación (Pradhan, 1976), ha sido demostrado que inyecciones intraventriculares de 5-OH- triptamina inhiben la autoestimulación. (Wise, Berger y Stein, 1973).

La acción de la P-clorofenilalanina sustancia que bloquea la biosíntesis de serotonina, y en consecuencia depleciona de esta al cerebro, es compleja, pues tras su inyección se observó una facilitación (Poschel y Ninteman, 1971), una inhibición (Gibson, McGregor y McGeer, 1970), o no se registró efecto alguno (Cooper, Black y Polino, 1971). Por otro lado ha sido sugerido -

que la inhibición mencionada, puede deberse más que a la depleción de serotonina, a la acción de metabolitos del mencionado fármaco tales como la 3-clorotiramina.

En resumen, psicofarmacológicamente, la serotonina está relacionada con la autoestimulación cerebral, lo que aún no está bien aclarado es si su acción es inhibitoria o excitatoria.

B-5) PEPTIDOS.

Un nuevo campo dentro de la neurotransmisión, en relación a la autoestimulación cerebral, ha sido abierto con el hallazgo de la existencia en el sistema nervioso central de una serie de péptidos activos fundamentalmente las encefalinas, cuyas acciones mimetizan a las de la morfina administrada exógenamente (Hughes et al., 1975).

El hecho de encontrar estas sustancias en áreas que soportan autoestimulación, tales como sustancia negra, núcleo accumbens, sustancia gris central del puente y área ventrotegmenal del mesencéfalo (Eldo et al., 1976; Brokkamp y Phillips, 1979), ha llevado a la realización de gran número de trabajos en los últimos años tendentes a aclarar la posible relación entre los péptidos activos y la conducta de autoestimulación.

Ha sido descrito el que la D-Ala-metencefalina, inyectada en el área ventrotegmenal del mesencéfalo, aumenta la tasa de autoestimulación del hipotálamo. Este efecto es revertido por la inyección sistémica previa de naloxone, un antagonista espe-

eficacia de la morfina (Broekkamp y Phillips, 1979).

Similares resultados han sido obtenidos cuando el área de inyección ha sido la sustancia negra.

Puesto que estos efectos facilitadores de la autoestimulación intracraneal halladas con el uso de morfina y encefalinas, son inhibidos cuando se bloquea la transmisión dopaminérgica - bien con el uso de neurolepticos o alterando la biosíntesis catecolaminérgica, se ha sugerido que la acción facilitadora sobre la autoestimulación de estos opioides en las áreas mencionadas, está mediada por el sistema dopaminérgico (Stein y Belluzi, 1979).

C) DOPAMINA Y AUTOESTIMULACION EN LA CORTEZA PREFRONTAL DE LA RATA.

C-1) LA CORTEZA PREFRONTAL.

La corteza prefrontal ha sido definida en los primates como aquel área del polo frontal que recibe las proyecciones corticales del núcleo dorsomedial del tálamo (Rose y Woolsey, 1948). Habiéndose subdividido en tres subáreas: la corteza dorsolateral (área 9 de Brodmann), la orbital y las áreas frontales oculares (área 8 de Brodmann). Estas subáreas reciben las proyecciones de las porciones lateral (parvocelular), medial (magnocelular) y extremo lateral (paralamellar) del núcleo dorsomedial

del tálamo respectivamente. (Leonard, 1968). (ver figura nº 3).

En la rata se ha intentado describir la zona cortical que fuera la análoga a la corteza prefrontal de los primates. Se ha visto que los estudios citoarquitecturales no son lo suficientemente consistentes como para basar en ellos la correlación. (Leonard, 1968). Desde los trabajos de C. Leonard, 1968, y de acuerdo con los estudios realizados en primates, se ha aceptado que la corteza prefrontal en la rata es el área del polo frontal que recibe las proyecciones corticales del núcleo dorsomedial del tálamo.

La proyección del núcleo dorsomedial del tálamo a la corteza, afecta exclusivamente a las siguientes áreas frontales:

a) la mayor parte de la pared medial anterior y dorsal a la rodilla del cuerpo caloso y que se ha denominado como corteza prefrontal medial.

b) el labio dorsal del surco rinal y que se ha llamado corteza prefrontal sulcal.

Estas dos áreas corticales son las que, en la rata, conforman la denominada corteza prefrontal, (ver figura nº 4).

La convexidad dorsolateral del polo frontal está exenta de la proyección cortical del núcleo dorsomedial del tálamo, no considerándose por tanto como corteza prefrontal.

La proyección del núcleo dorsomedial del tálamo hacia la corteza prefrontal está perfectamente sistematizada, así la región más anterior del núcleo dorsomedial del tálamo proyecta a la corteza prefrontal medial en su porción más ventral.

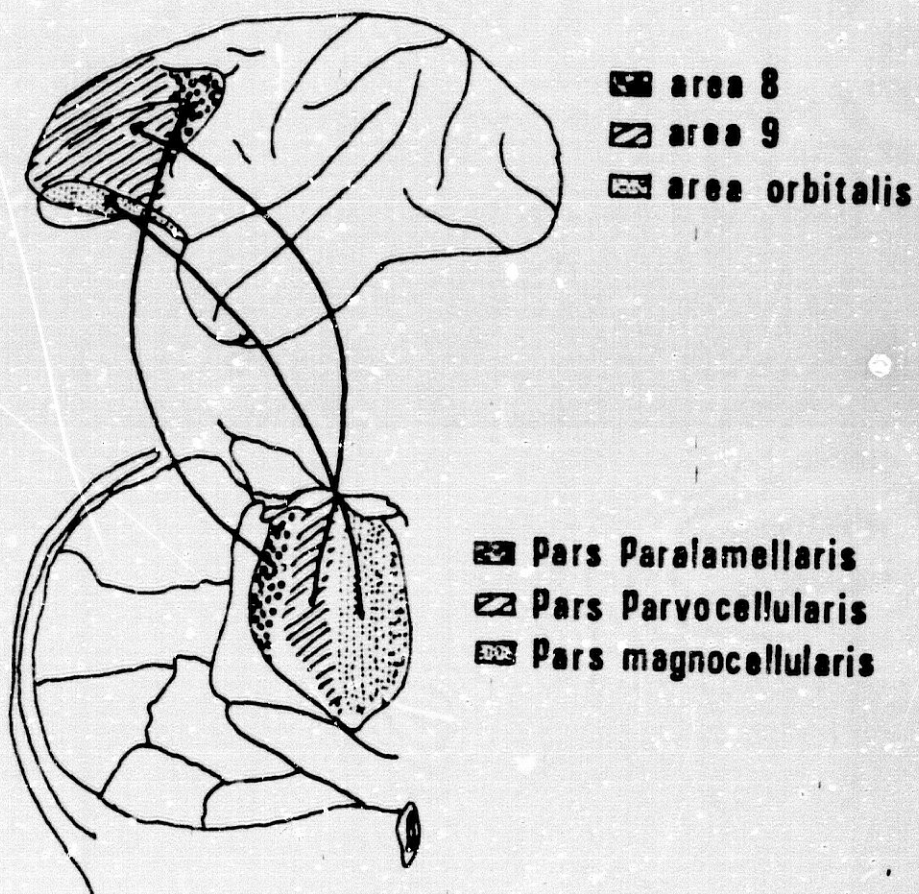
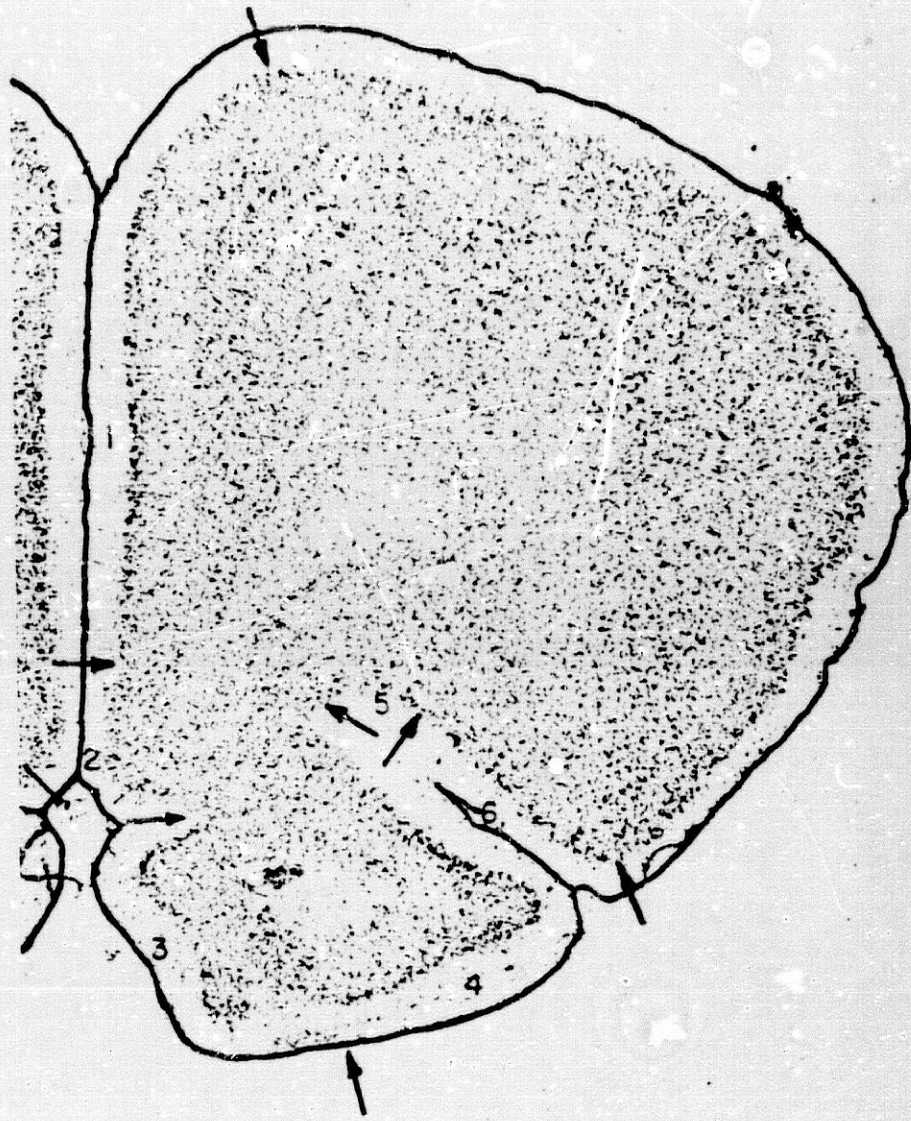


FIGURA 3

Proyecciones a la corteza prefrontal desde diferentes porciones del núcleo dorsomedial del tálamo en el mono (tomado de Fuster, 1980).



9

FIGURA 4

Sección frontal del cerebro de rata, a nivel del lóbulo frontal. 1: corteza prefrontal medial; 6: corteza prefrontal sulcal; 3 y 4: proyecciones corticales del bulbo olfatorio; 2 y 5: proyecciones corticales de los núcleos tálamicos anteromedial y ventromedial respectivamente (tomado de Leonard, 1968).

Las zonas caudales del núcleo dorsomedial del tálamo proyectan a la porción dorsal de la corteza prefrontal medial así como a la corteza prefrontal sulcal. La región dorsomedial del núcleo dorsomedial del tálamo proyecta exclusivamente a la corteza prefrontal sulcal (Leonard, 1968).

C-2) INERVACION CATECOLAMINERGICA DE LA CORTEZA PREFRONTAL.

La corteza prefrontal en la rata, recibe inervación catecolaminérgica, tanto noradrenérgica como dopaminérgica (Lindvall, 1974; Thierry y cols., 1976).

La inervación noradrenérgica proviene del locus coeruleus, del cual parten los axones formando el llamado fascículo noradrenérgico dorsal, el cual provee de noradrenalina a toda la corteza cerebral, incluida el área prefrontal (ver figura nº 2 pag. 9). De la corteza prefrontal, es su porción medial la que posee la mayor densidad de fibras dopaminérgicas (Lindvall, 1974).

En general, la inervación noradrenérgica cortical es más abundante en las capas más superficiales de la corteza, hallándose en su capa molecular la mayor proporción de aferencias noradrenérgicas (Berger y col., 1976; Fuxe y cols., 1968).

En 1973, Thierry demostró la existencia de dopamina en la corteza cerebral de la rata. En estudios posteriores, G. Lindvall y K. Fuxe han descrito la existencia de la vía mesocortical dopaminérgica, que provee de dopamina a la corteza cerebral. -

Esta vía tiene su origen en los somas neuronales situados en el área ventrotegmenal del mesencéfalo (ó A10 en la terminología de A. Dahlstrom y K. Fuxe) y en la pars compacta de la sustancia negra (A9) (ver figura nº 1, pag. 8).

A diferencia de la inervación noradrenérgica cortical, la cual afecta a toda la corteza cerebral, la inervación dopaminérgica afecta a un área cortical mucho más limitada y compuesta por la corteza frontal, la corteza cingular anterior, la corteza entorrinal y la zona transicional entre el neocórtex y la corteza piriforme, a lo largo del surco rinal (Berger y cols., 1976). La corteza prefrontal es una de las pocas áreas corticales inervada por las terminales dopaminérgicas.

Hoy es bien conocida la sistematización topográfica de la vía mesocortical dopaminérgica en cuanto a la corteza prefrontal se refiere. Así la porción pregenual de la corteza prefrontal medial es inervada por la zona medial del área ventrotegmenal del mesencéfalo; la porción supragenual de la corteza prefrontal medial recibe las aferencias dopaminérgicas de la pars compacta de la sustancia negra, así como de la porción ventrolateral del área ventrotegmenal del mesencéfalo. Por su parte el origen de la inervación de la corteza prefrontal medial está en la porción dorsolateral del área ventrotegmenal del mesencéfalo (Beckstead, 1976; Thierry y cols., 1976; Fuxe y cols. 1974 Lindvall y cols., 1974). La corteza prefrontal medial es la que muestra la mayor densidad de terminales dopaminérgicas.

Las aferencias dopaminérgicas corticales se acumulan en las

capas más profundas (V y VI) de la corteza, a diferencia de las noradrenérgicas las cuales lo hacen en las capas superficiales (I - III). Las capas intermedias contienen tanto fibras noradrenérgicas como dopaminérgicas (Berger y cols., 1976). (ver figs. nº5 y 6).

Por métodos histoquímicos de fluorescencia se ha podido diferenciar las fibras noradrenérgicas de las dopaminérgicas, las primeras manifiestan en su trayecto una serie de varicosidades esféricas y espaciadas regularmente, entre tanto, las fibras dopaminérgicas son más finas y sinuosas, y sus varicosidades son ovoideas y espaciadas irregularmente (Berger y cols., 1976). (ver fotog. nº 1).

C-3) LA DOPAMINA COMO POSIBLE NEUROTRANSMISOR DE LA CONDUCTA DE AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL EN LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA.

Existen una serie de trabajos que proveen la evidencia sobre la participación de la dopamina como sustrato neuroquímico de la autoestimulación intracraneal en la corteza prefrontal medial de la rata. Así Mora et al. demostraron que la apomorfina (un agonista de los receptores dopaminérgicos) inyectada subcutáneamente, produce un descenso dosis-relacionado de la tasa de autoestimulación en esta área cerebral (Mora et al., 1976 a). Efectos similares han sido referidos por los mismos autores en la corteza orbitofrontal del mono rhesus, un área que se cor. as

ponde con la corteza prefrontal sulcal de la rata (Phillips et al., 1979).

Los efectos de la apomorfina referidos por estos autores, parecen ser específicos y por tanto debidos a la acción de dicha droga sobre los sustratos neuroquímicos de la autoestimulación cerebral. Así por ejemplo, en el estudio referido sobre los efectos de la apomorfina en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, comprobaron que mientras la apomorfina producía un descenso dosis-relacionado de la tasa de autoestimulación en esta área, no alteraba la tasa de autoestimulación del neocórtex (otra área dopaminérgica), registrada en los mismos animales y durante el mismo experimento (Mora et al., 1976 a). Por otro lado, Phillips et al. demostraron que mientras la apomorfina inhibía la conducta de autcestimulación en la corteza orbitofrontal del mono rhesus, este fármaco no alteraba la realización de otra conducta operativa del animal, consistente en apretar una palanca para recibir una cantidad estándar de zumo de fruta (Phillips et al., 1979).

Por otra parte, los bloqueantes de los receptores dopaminérgicos, tales como el espiroperidol, haloperidol y pimozide, inyectados sistémicamente, producen una inhibición dosis-relacionada de la conducta de autoestimulación tanto en la corteza prefrontal medial de la rata (Mora et al., 1980), como en la corteza orbitofrontal del mono rhesus (Phillips et al., 1979; - Mora et al., 1976 c).

Estos últimos experimentos llevados a cabo con los bloquean

tes de los receptores dopaminérgicos, merecen una consideración especial relativa a los posibles efectos inespecíficos de estas drogas al ser inyectadas por vía sistémica, pues es conocido -- que alteran la capacidad motora normal del animal, al bloquear la vía nigro-estriatal dopaminérgica perteneciente al sistema motor extrapiramidal. Sin embargo, los experimentos antes mencionados sobre los efectos de estos fármacos en el primate, con controles delicados referidos a la capacidad operacional del animal, demostraron que a las dosis bajas utilizadas, la capacidad motora apenas se vio afectada (Phillips et al., 1973; Mora et al., 1976 c). De cualquier manera, este es uno de los aspectos que en profundidad será tratado experimentalmente en esta tesis y que forma parte del planteamiento experimental de la misma.

Los experimentos hasta aquí referidos, proporcionan una evidencia farmacológica y por tanto indirecta del posible sustrato dopaminérgico de la autoestimulación cerebral de la corteza prefrontal medial de la rata. Estudios posteriores han demostrado la existencia de neuronas en la corteza prefrontal medial de la rata, que responden específicamente con una inhibición de su tasa de disparo espontánea, a la inyección sistémica de apomorfina, así como de la l-dopa (un precursor de la dopamina) y de la anfetamina, droga que aumenta la cantidad de dopamina en el espacio sináptico por aumento de su liberación, así como por el bloqueo de su recaptación (Mora et al., 1976 c; Phillips y Fibiger, 1978). Estos datos fueron confirmados por Bunney et al.

FIGURAS 5 y 6.- Representación de la inervación catecolaminérgica de la corteza prefrontal de la rata.

FIGURA 5

Sección frontal del cerebro de rata a nivel de la parte rostral de la capsula externa (EC). A la derecha se representan las terminales dopaminérgicas y noradrenérgicas. En la izquierda están representadas solamente las terminales dopaminérgicas. RF: surco rinal (Tomado de Lindvall et al. 1978).

FIGURA 6

Representación de la inervación dopaminérgica de la corteza prefrontal en hemisecciones frontales del cerebro de rata. Los planos 2-7 corresponden respectivamente a los niveles 4b - 7b, 9b y 12b del Atlas de König y Klippel. El mayor grosor del punteado corresponde a una mayor densidad de fibras dopaminérgicas. M: Corteza prefrontal medial. S: Corteza prefrontal sulcal. TOI: Tracto olfatorio intermedio. FMI: Forceps minor. ac: Núcleo accumbens. CCC: Rodilla del cuerpo calloso. CC: Cuerpo calloso. oa: núcleo olfatorio anterior. CAA: Comisura anterior. to: Tubérculo olfatorio. cp: núcleo caudado-putamen. (Tomado de Berger et al. 1976).

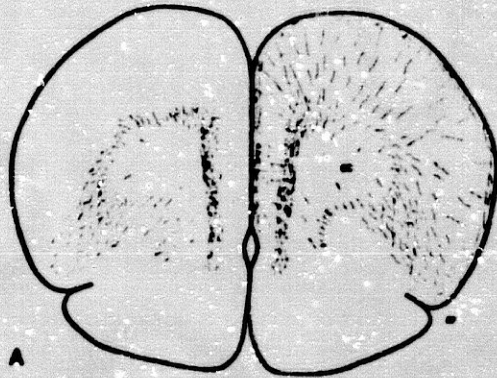


FIGURA 5

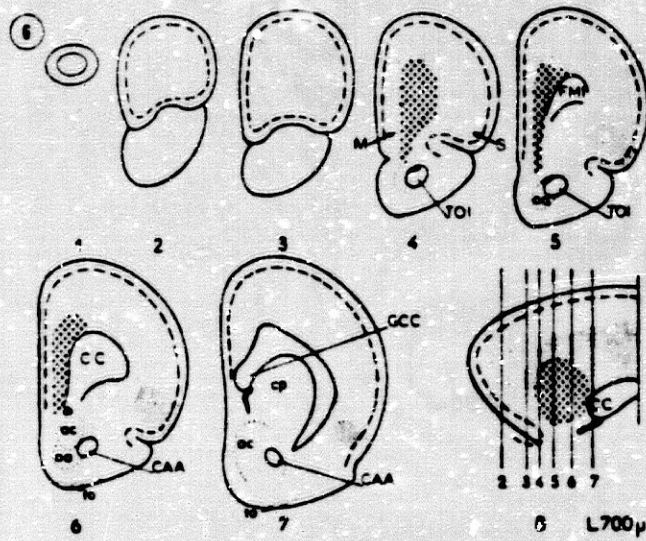
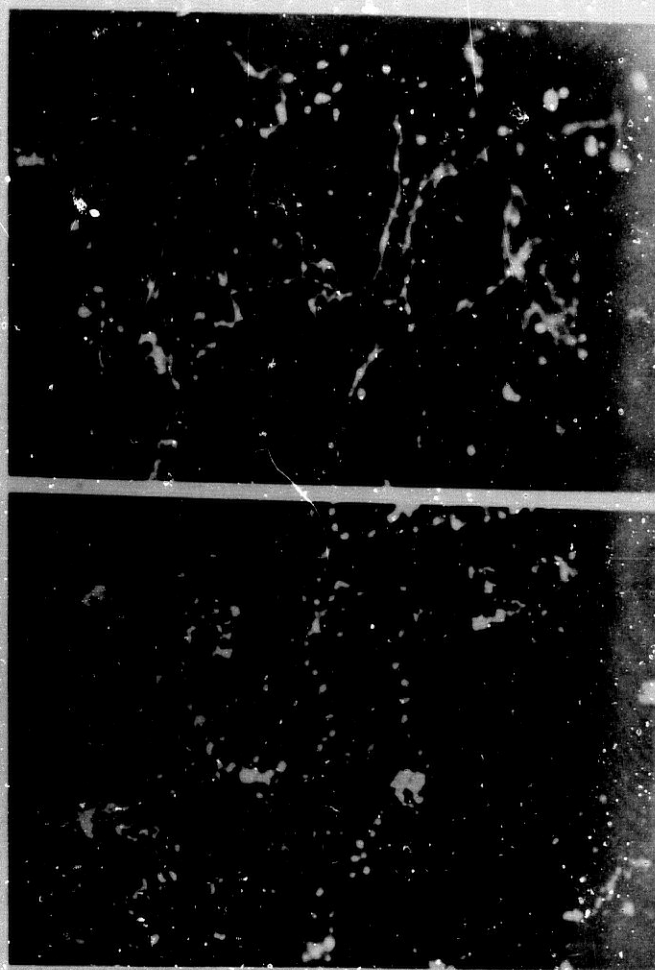


FIGURA 6



FOTOGRAFIA 1.- Fibras dopaminérgicas y noradrenérgicas en la corteza frontal del cerebro humano. Fotografía de una preparación con la técnica de histofluorescencia.

La micrografía de la parte superior muestra una fibra con dopamina caracterizada por su finura y sinuosidad, con prominencias en forma de usos irregularmente esparcidos. La micrografía inferior muestra fibras noradrenérgicas caracterizadas por prominencias muy próximas entre sí y de extraordinaria fluorescencia. (los gránulos de color amarillento son acúmulos de lipofusina) (tomado de Routtenberg, 1979).

Estos autores, mediante la aplicación iontoforética de dopamina y apomorfinina en la corteza prefrontal de la rata, comprobaron los efectos inhibitorios que dichos fármacos tienen sobre las neuronas de las capas más profundas, en las cuales se encuentra la mayor densidad de terminales dopaminérgicas (Bunney y Agajanian, 1976).

Evidencias definitivas de que la autoestimulación cerebral produce una liberación de dopamina en la corteza prefrontal medial de la rata, fue llevada a cabo por Mora y Myers en 1979 al demostrar una liberación de dopamina endógena en esta área cerebral.

El anterior experimento muestra una evidencia directa de la participación de la dopamina en el fenómeno de autoestimulación intracraneal de la corteza prefrontal medial de la rata. Estos resultados substanciados por el resto de los experimentos antes mencionados, sugieren fuertemente la hipótesis de que la dopamina forma parte del sustrato neuroquímico de la conducta de autoestimulación eléctrica en la corteza prefrontal medial de la rata.

No obstante, el papel de la dopamina en el mantenimiento de esta conducta en la corteza prefrontal de la rata, no parece ser exclusivo, pues ha sido demostrado que la deplección en casi un 95% de los niveles de dopamina en la corteza prefrontal medial tras la destrucción de la vía mesocortical dopaminérgica (vía que provee de dopamina a dicha área cerebral), conduce tan sólo a una reducción del 38% en la tasa de autoestimulación de

la corteza prefrontal medial de la rata a los veintiún días postlesión (Phillips y Fibiger, 1978).

D) DIFERENTES TIPOS DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

En los últimos años, se viene postulando la existencia de diferentes tipos de receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central (Cools y Van Rossum, 1976; Van Rossum, 1978; Keibarian y Calne, 1979).

El empleo de técnicas histoquímicas, electrofisiológicas, bioquímicas y farmacológicas, ha permitido sugerir la existencia de dos tipos distintos de receptores dopaminérgicos. Estos dos tipos de receptores han recibido diferentes denominaciones según los distintos autores. Así, Cools et al. los han denominado receptores DA_{α} y DA_{β} . Keibarian y Calne los refieren como receptores α y β . Por otro lado, Spano et al. los han denominado como receptores D_2 y D_1 . Esta última terminología ha sido la más aceptada y será la usada en esta tesina.

Seguidamente pasamos a describir las evidencias experimentales que apoyan la hipótesis de la existencia de distintos receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central.

D-1) EVIDENCIAS EXPERIMENTALES QUE SOPORTAN LA HIPOTESIS DE LA EXISTENCIA DE DIFERENTES TIPOS DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

1) EXPERIENCIAS HISTOQUÍMICAS.

En trabajos iniciales, llevados a cabo por Fuxe et al., 1974 y Olson et al., 1972 y con el empleo de técnicas histoquímicas, demostraron la existencia de dos tipos de terminales dopaminérgicas estructuralmente diferentes en el cerebro de rata. Así, - el primer tipo de terminales dopaminérgicas, muestra una fluorescencia debida a la dopamina circunscrita en islotes y localizada principalmente en el núcleo accumbens, áreas del tracto diagonal y en el tubérculo olfatorio, este tipo de terminal dopaminérgica fue denominada por los autores como DA_1 . El otro tipo de terminal dopaminérgica, denominada DA_2 muestra una fluorescencia debida a la dopamina distribuida difusamente, y localizada principalmente en la porción medial de la cabeza del neostriado. Ontogénicamente, es posible establecer diferencias entre ambas estructuras, pues las terminales DA_1 aparecen en un estadio postnatal más precoz que las DA_2 . (Cools y Van Rossum, 1976).

2) EXPERIENCIAS ELECTROFISIOLÓGICAS.

Estudios realizados sobre la actividad eléctrica de neuronas del núcleo caudado-putamen en gatos, han mostrado la existencia de dos tipos de neuronas que responden de manera opuesta a la estimulación nigral de la vía dopaminérgica nigro-estriatal, o a la inyección iontoforética de dopamina (Cools y Van Rossum, 1976). Así, algunas neuronas estriatales, son excitadas por la estimulación nigral o por la aplicación iontoforética de dopamina, mientras que otras neuronas estriatales, son inhibidas durante el mismo proceso (Cools y Van Rossum, 1976). Se propone, en vista de estos resultados, la existencia en el neostriado del gato, de dos áreas con distinta sensibilidad a la dopamina, en función de su respuesta electrofisiológica. Estas dos áreas diferentes, se encuentran localizadas en distintas zonas topográficas del neostriado, pues las neuronas que responden con excitación a la estimulación nigral, se localizan en los dos tercios mediales del mencionado núcleo, mientras que las neuronas que son inhibidas, se hallan repartidas por todo el neostriado. Es de destacar el hecho de que el número de neuronas estriatales, que son inhibidas tras la estimulación de la sustancia negra, es mayor que el de neuronas que son excitadas.

En confirmación de estos resultados fue descrito posteriormente por Van Rossum, la existencia de dos tipos distintos de neuronas en el cerebro del caracol hélix dispersa, en cuanto a su respuesta a la dopamina. En unas, la dopamina inhibe su tasa

de disparo espontáneo, mientras que en otras neuronas aumenta su tasa de disparo espontáneo (Van Rossum, 1978).

3) EXPERIENCIAS FARMACOLOGICAS.

El empleo de diferentes clases de fármacos dopaminérgicos, tanto de agonistas como de antagonistas, han puesto de relieve la diferencia de efectos que dichos fármacos tienen sobre distintos test experimentales empleados. Así la apomorfina, un agonista dopaminérgico, produce estereotipias cuando es inyectada en el estriado de la rata (Cools y Van Rossum, 1976). Los agonistas dopaminérgicos ET-495 y la ergometrina, son menos efectivos en producir dicha conducta. En cambio la administración de ergometrina en el núcleo acumbens, causa hiperactividad motora en la rata, la apomorfina es menos efectiva en producir esta hiperactividad (Cools y Van Rossum, 1976).

En el cerebro del caracol hélix dispersa, la apomorfina mimetiza a la dopamina en aquellas neuronas que se estimulaban con la dopamina, y es inactiva frente a las neuronas inhibidas por la dopamina (Van Rossum, 1978). El haloperidol por su parte, antagoniza los efectos de la dopamina en las neuronas excitadas por esta, y es inactivo sobre las neuronas inhibidas por la dopamina.

La ergometrina, antagoniza la acción de la dopamina en aquellas neuronas en las que la dopamina causa inhibición (Van y Ro-

ssum, 1978).

En base a los experimentos histológicos, electrofisiológicos y farmacológicos anteriormente expuestos, han sido propuestos dos tipos diferentes de receptores dopaminérgicos: Los receptores DA_e (o su sinónimo: receptores α y más recientemente receptores D_2) que median la excitación causada por la dopamina y son sensibles a la apomorfina (como agonista dopaminérgico) y al haloperidol (como antagonista dopaminérgico), y los receptores DA_i (o su sinónimo: receptores β y más recientemente receptores D_1), que median la inhibición causada por la dopamina y no responden a la apomorfina ni al haloperidol; pero sí, a la ergometrina, que actúa como antagonista de los mismos.

4) EXPERIENCIAS BIOQUÍMICAS.

El empleo en los últimos años de técnicas bioquímicas en la investigación de los diferentes tipos de receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central, ha abierto una nueva vía experimental en cuanto al estudio de las diversas localizaciones y características de los dos tipos de receptores dopaminérgicos.

Estos métodos se basan en la capacidad de la dopamina en estimular a un adenilato ciclase (Kebabian y Calne, 1979). En base a esto , se distinguen aquellos receptores en los que la dopamina actúa estimulando a la mencionada adenil-ciclase y en consecuencia produciendo un acúmulo de AMP_c intracelular. Es-

tos receptores participan de las propiedades señaladas anteriormente para los receptores D_1 (Kebabian y Calne, 1979). Ejemplo de ellos son los receptores dopaminérgicos retinianos de la carpa (Iversen et al, 1980) o los de las células paratiroides de la vaca (Kebabian y Calne, 1979). En cambio en otros receptores, la dopamina no actúa estimulando a una adenil-ciclase; y se caracterizan por su alta afinidad a las 3H -butirfenonas (Kebabian y Calne, 1979) y más recientemente al agonista dopaminérgico ADTN (2-amino-6,7-hidroxitetralin) (Iversen et al ., 1980). Este tipo de receptor ha recibido la denominación de receptor dopaminérgico D_2 , por cumplir con las condiciones de estas, anteriormente señaladas. Ejemplo de receptor D_2 sería el que media la acción inhibitoria de la dopamina sobre la secreción de prolactina en células de la adenohipófisis (Iversen y cols., 1980).

Por otro lado, se han estudiado los efectos que los fármacos dopaminérgicos tienen sobre estos receptores. Así en una reciente revisión sobre este tema realizada por Kebabian y Calne, se considera a la apomorfina (en concentraciones nanomolares), y a los derivados ergóticos (en concentraciones nanomolares) como agonistas de los receptores D_2 y al sulpiride y metoclopramida como antagonistas selectivos de los receptores D_2 . Mientras que la apomorfina es un parcial agonista o antagonista de los receptores D_1 y los derivados ergóticos (en concentraciones nanomolares), son potentes antagonistas D_1 y en concentraciones micromolares, son débiles agonistas D_1 . Selectivos antagonistas de los receptores D_1 no son conocidos en la actualidad.

En cuanto a la localización a nivel sináptico de estos diferentes tipos de receptores dopaminérgicos, se sabe en la actualidad, que ambos tipos de receptores D_1 y D_2 pueden ocupar niveles pre o postsinápticos según el área estudiada. Así en el neostriado de rata, los receptores D_1 ocupan un lugar presináptico, localizándose principalmente en las terminales nerviosas de la vía cortico-estriatal. En cambio los receptores D_2 , ocupan una posición postsináptica, hallándose en los somas de las neuronas intraestriatales y que son origen de la vía estriato-nigral (Iversen et al. , 1980). En cambio en la sustancia negra los receptores dopaminérgicos D_1 ocupan una posición postsináptica, mientras que los D_2 se localizan en estructuras presinápticas (Iversen et al. , 1980).

Un resumen de las características y propiedades de los diferentes tipos de receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central puede ser apreciado en la tabla que a continuación exponemos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

Denominación	D ₁ , DA ₁ ó β	D ₂ , DA ₂ ó α
Localización de los receptores tipo	paratiroides de la vaca	adenohipófisis de los mamíferos
Ligado a la adenil-ciclasa	SI	NO
Fluorescencia por dopamina	en islotes circunscritos	difusa
Electrofisiología	inhibitorios	excitatorios
Apomorfina	parcial agonista o antagonista	agonista (concentraciones nanomolares)
Derivados ergóticos	potentes antagonistas (concentraciones nanomolares) débiles agonistas (concentraciones micromolares)	agonistas (concentraciones nanomolares)
Antagonista selectivo	No conocido	sulpiride y metoclopramide

(Modificada de Kebebian y Calne, 1979).

D-2) RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS D₁ Y D₂ Y CORTEZA PREFRONTAL.

Tras la demostración de que en el sistema nervioso central existen dos tipos diferentes de receptores dopaminérgicos, denominados: receptores D₁ y D₂, han sido llevados a cabo una serie de estudios, por diferentes autores, con el fin de establecer la localización cerebral de ambos tipos de receptores - (Kebabian y Calne, 1979; Iversen et al., 1980).

Estos estudios, se han basado fundamentalmente en las propiedades bioquímicas de los receptores D₁ y D₂; en particular en la alta afinidad que los receptores D₂ muestran por el ³H-Spiroperidol y en la estimulación de un adenilato-ciclase - producida por la actuación de los receptores D₁. En estos trabajos ha sido demostrado que en la mayoría de las áreas cerebrales estudiadas: estriado, tubérculo olfatorio, sustancia negra, corteza somatosensorial, corteza entorrinal ventral y dorsal, - hipocampo e hipotálamo, se hallan ambos tipos de receptores dopaminérgicos, si bien, la proporción que hay entre ellos varía de unas áreas a otras (Iversen et al., 1980). Así por ejemplo, el tubérculo olfatorio muestra la mayor densidad de receptores D₁ mientras que su cantidad en receptores D₂, medidos por su afinidad al ³H-Spiroperidol, es sólo un tercio de la hallada en el estriado.

En cuanto a la corteza prefrontal, una de las pocas áreas corticales que contienen dopamina, ha sido demostrado por Iver-

sen, 1980, la existencia en esta área cortical de la estimulación de un adenilato-ciclasa como respuesta a la dopamina. Así como que las zonas de alta afinidad al ³H-espiroperidol, se hallan en cantidades casi indetectables. Esto sugiere que en la corteza prefrontal existe un predominio importante de los receptores dopaminérgicos D₁ sobre los D₂.

Por otra parte, ha sido descrito por Tassin et al. 1978, que en el lóbulo frontal de la rata, las concentraciones más altas de receptores D₁ se encuentran en la corteza prefrontal medial y sulcal.

E) RESUMEN Y PLANTEAMIENTO.

La dopamina ha sido propuesta como posible sustrato neuroquímico del proceso de autoestimulación eléctrica en la corteza prefrontal medial de la rata. Por otra parte, se conoce la existencia de dos tipos de receptores dopaminérgicos, D_1 y D_2 en el sistema nervioso central.

El propósito de la presente tesina, fue el de realizar un estudio psicofarmacológico con el fin de discernir el papel que ambos tipos de receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 tienen sobre la conducta de autoestimulación eléctrica en la corteza prefrontal medial de la rata. Con este fin, se escogieron las técnicas idóneas que permitieron llevar a cabo la investigación. Estas técnicas, descritas ampliamente en el apartado de material y métodos de esta tesina, son:

- 1.- Técnicas de estimulación eléctrica del cerebro.
- 2.- Técnicas de estimulación química del cerebro.
- 3.- Análisis de la conducta de autoestimulación cerebral.
- 4.- Estudio y registro de la actividad motora espontánea de los animales.
- 5.- Técnicas histológicas.

Los experimentos llevados a cabo fueron:

- 1) Efectos de la inyección sistémica de spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.
- 2) Efectos del pimozide inyectado en la corteza prefrontal medial de la rata, sobre la autoestimulación de dicha área.
- 3) Efectos de la inyección sistémica de sulpiride sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.
- 4) Efectos del sulpiride inyectado en la corteza prefrontal medial de la rata, sobre la autoestimulación de dicha área.
- 5) Efectos de la inyección sistémica de apomorfina sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.
- 6) Efectos de la inyección sistémica de bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.
- 7) Efectos de la inyección sistémica de lergotrile sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.

MATERIAL Y METODOS

1) ANIMALES.

Todos los animales utilizados en los experimentos presentados en esta Tesina fueron ratas adultas machos de un peso - aproximado a los 250 grs., de la raza wistar. Las ratas fueron suministradas por el Servicio de Animales de Experimentación de la Comisión de Servicios Técnicos de la Universidad de Granada. Los animales se mantuvieron aislados en jaulas individuales, con un fotoperiodo de 12 horas y una temperatura de - 20-25° C. La comida y bebida fue suministrada "ad libitum".

2) SUSTANCIAS QUIMICAS.

Fueron usados los siguientes compuestos químicos:

- ClNa, Merk
- Formaldehído 37%, Merk
- Hidrato de cloral
- Propilenglicol
- Sulfato magnésido, Merk
- Etanol, Merk
- Nembutal, Serra
- Resina plástica Perfex
- Acido acético glacial, Merk
- Apomorfina (suministrada amablemente por el prof. C.V.)

Gisolfi. de la Facultad de Medicina de la Universidad de Iowa, U.S.A.).

- Bromocriptina, Sandoz S.A.
- Lergotrile, Lilly Indiana de España S.A.
- Pimozide, Janssen Pharmaceutica N.V. Beerse Bélgica.
- Spiroperidol, Janssen Pharmaceutica N. V. Beerse, Bélgica.
- Sulpiride. Lab. Prodes S.A.

3) APARATOS .

En la realización de las operaciones de implante de electrodos y cánulas, microinyección intracerebral, obtención y experiencias sobre la conducta de autoestimulación cerebral y motilidad espontánea se han utilizado los siguientes aparatos:

- Estereotáxico para roedores David Kopf Instruments, modelo 900
- Motor portafresas Casali DSE 47
- Bomba de infusión Harvard Apparatus 940-A
- Estimulador Letica L I 1200
- Estimulador Cibernetic CS - 1C
- Estimulador S R I Stimulator Cat. nº 6030
- Módulos digitales (2) Letica LI 2300
- Actímetros (2) Letica LI 3000
- Jaulas de motilidad (2) Letica
- Contadores eléctricos (6)

- Osciloscopio Teleequipment C 61a.
- Microscopio binocular Reichert.

4) PROCEDIMIENTOS.

4-1) REALIZACION DE IMPLANTES CON ELECTRODOS.

Los implantes de electrodos constan de los siguientes elementos:

Dos electrodos fabricados con alfileres entomológicos inoxidables de 0.25 mm de diámetro los cuales son doblados dos veces en ángulo recto.

Tres conectores hembras amphenol 220-502.

Los dos electrodos se introducen y se unen por presión en sus correspondientes conectores. Al tercer amphenol se le une con estaño un cable fino de acero inoxidable, que será utilizado como polo de referencia (tierra). Los tres conectores se introducen en un armazón de polivinilo aislante amphenol. Un ejemplo de implante con electrodos puede observarse en la figura nº 7.

La longitud de los electrodos es de 6.5 mm y la distancia entre ellas es de 1.6 mm. Una vez reguladas estas medidas, se aseguran colocando una gota de Araldit en la parte inferior del armazón de polivinilo aislante.

Seguidamente, los electrodos son recubiertos con tres capas de barniz tixotrópico aislante. Una vez que se ha secado, se pone al descubierto la punta de los electrodos, en una longitud de 0.5 mm, para que sea esta la única zona del electrodo que permita el paso de la corriente eléctrica al tejido cerebral.

4-2) REALIZACION DE IMPLANTES CON ELECTRODOS Y CANULAS.

Para la realización de un implante con cánulas y electrodos, se usan 2 cánulas guía de acero inoxidable de 23 ga de diámetro y de una longitud de 10.5 mm, una vez situadas paralelamente a una distancia de 1.6 mm, son soldadas con estaño en un extremo para que mantengan permanentemente esta distancia entre sí. Cada cánula lleva un fiador de 27 ga de diámetro y 11 mm de longitud. Este fiador es movilizado y limpiado diariamente con alcohol, con el fin de mantener permanentemente permeable la cánula guía. Una vez soldadas las cánulas guía, se aplican a un implante de electrodos idéntico al anteriormente reseñado mediante araldit. Quedan de esta manera paralelas a los electrodos y situadas un mm anterior a estos y 2.5 mm por encima de la punta de los electrodos (un ejemplo de implante con electrodo y cánulas puede verse en la figura nº 8).

FIGURA 7

Implante con electrodos. A: Electrodo. B: Electrodo unido al conector. C: Conectores y electrodos en su soporte aislante. Los electrodos van unidos a los conectores de los extremos. El conector central se suelda a un cable flexible que va conectado al polo positivo y a tierra.

FIGURA 8

Implante con electrodos y cánula. D: Fiadores. E: cánulas. F: Las cánulas se han adosado mediante cemento plástico dental a un implante con electrodos, idéntico al anterior.

FIGURA 7

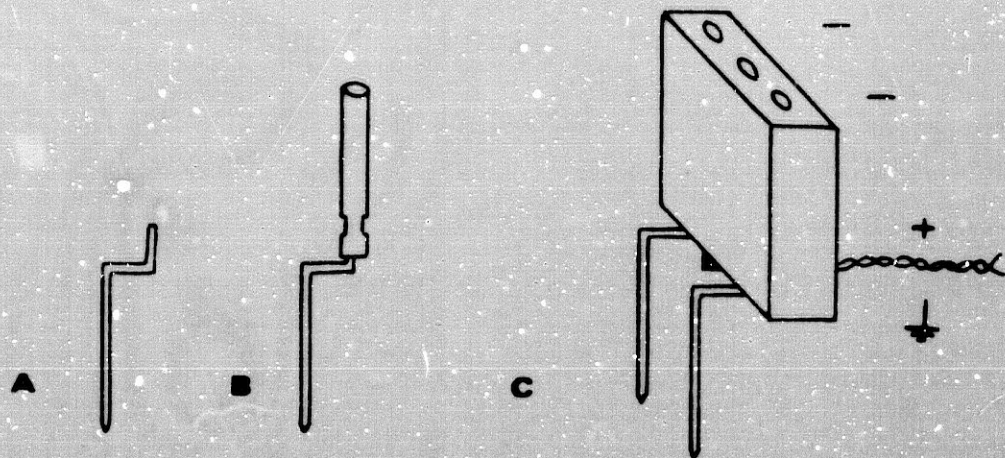
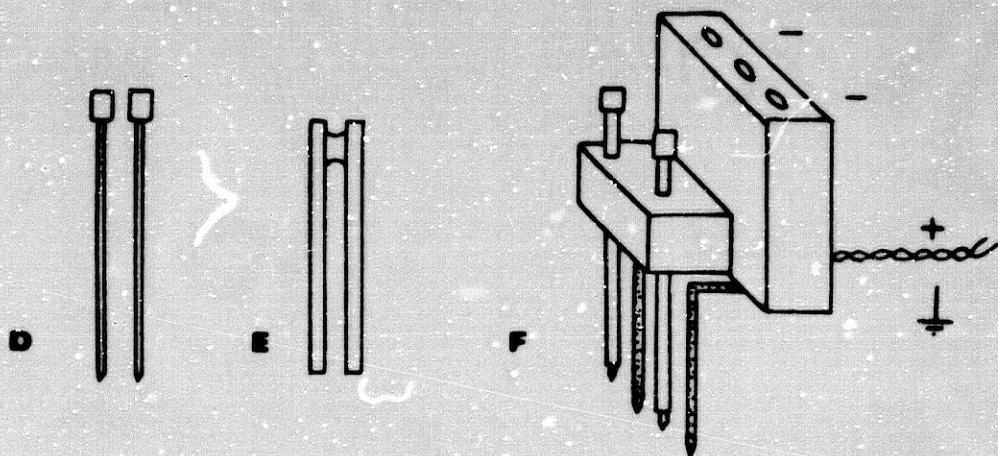


FIGURA 8



4-3) PROCEDIMIENTO QUIRURGICO DE APLICACION DE LOS IMPLANTES EN LA RATA.

Las ratas son pesadas y anestesiadas con equitensina, que se prepara disolviendo los siguientes compuestos por el orden que se citan.

Para preparar 500 ml:

- a.- Disolver 21.25 grs de hidrato de cloral en 49.4 ml de etanol.
- b.- Añadir 4.86 grs. de Nembutal en agua destilada, el volumen de la disolución es de 61 ml.
- c.- Añadir 198 ml. de propilenglicol.
- d.- Añadir 10.63 grs de sulfato magnésico disuelto en agua.
- e.- Agua hasta completar los 500 ml de disolución.

El anestésico se administra por vía intraperitoneal a la dosis de 2 ml / Kg. de peso. Una vez que el animal está profundamente anestesiado (aproximadamente en unos 3 minutos). Se coloca en un estereotáxico para roedores David Kopf Instruments mod. 900. En él, el cráneo de la rata se fija introduciendo en ambos conductos auditivos externos sendos ejes y pinzando el maxilar superior en posición adecuada. Con estas maniobras el cráneo queda perfectamente fijado en los planos horizontal y vertical. Situado y fijado de esta manera el cráneo, se pasa a descubrir la calota, mediante una incisión longitudinal de la piel que la recubre. Con pinzas hemostáticas se separan ambas mitades cutáneas, seguidamente se despega el periostio y se hemosta

sian con espongo están las pequeñas hemorragias producidas con esta maniobra. Una vez expuesta la calota, se señala sobre su superficie con lápiz el punto bregma que es utilizado como referencia en la obtención de las coordenadas estereotáxicas, que en el caso de la corteza prefrontal medial y según el atlas de Konig y Klippel, 1967 son: 2.5 mm anterior a Bregma, 0.8 mm lateral a la línea media y 4 mm de profundidad por debajo de la duramadre. Una vez señalado el bregma, se sitúa la punta del electrodo izquierdo en dicho punto, y se desplaza 0.8 mm lateral y 2.5 mm anterior a bregma. Quedan de esta forma los electrodos en posición. Con lápiz se marca en el hueso los dos puntos por donde serán introducidos los electrodos.

Igualmente se señalan tres puntos en las que se emplazan tres tornillos de fijación, de manera que no interfieran con los electrodos ni con el implante.

Con una fresa de corona esférica de 1.7 mm de diámetro y aplicada a un motor portafresas Casali DSE 47, se abren los orificios marcados para los electrodos, perforando la calota hasta dejar expuesta la duramadre.

Se toman de nuevo las coordenadas estereotáxicas a partir de bregma y los electrodos se introducen por los orificios hasta una profundidad de 4 mm por debajo de la duramadre. De esta forma los electrodos se hallan situados en la corteza prefrontal medial. El cable que usamos como tierra se fija en los tres tornillos previamente anillados a la calota.

Tras esto, se fija el implante a la calota con cemento plástico dental (Simplex Rapid, How medica Internat. Ltd. Dental Fillings dincion, London), el cual engloba también a la tierra y a los tres tornillos de fijación. Fraguado el cemento, se retira - las pinzas hemostáticas cubriendo la piel a la parte inferior del implante. (en las fotografías 2, 3 y 4, se presentan secuencialmente tres momentos de la operación antes descrita).

Finalizada la operación el animal es devuelto a su jaula, - manteniéndose una vigilancia de su ingesta de comida y bebida en los días postoperación inmediata.

Cuando el implante es de electrodos y cánulas la ejecución de la operación es igual a la descrita anteriormente salvo en - que los orificios realizados en la calota han de ser mayores que en el caso de implantes con electrodos exclusivamente, para que permita el paso de los electrodos y cánula.

4-4) MÉTODOS DE CONDUCTA: ESQUEMA DE ENTRENAMIENTO DE LAS RATAS.

Los experimentos de autoestimulación y motilidad espontánea se llevaron a cabo en una habitación especial. Insonorizada y con control de temperatura.

a) REGISTRO DE LA MOTILIDAD ESPONTÁNEA.

Para el estudio de la motilidad espontánea se utiliza una caja de Skinner equipada con un suelo formado por una serie de

varillas metálicas conectadas individualmente a un actímetro de cuatro canales (actimeter Letica LI 3000). Entre uno y otro canal se halla una varilla metálica conectada a tierra. Los desplazamientos de la rata hacen que se vayan cerrando el circuito entre tierra y uno de los canales (1, 2, 3, ó 4). Cada contacto marca un pulso que es registrado por un contador adaptado al actímetro (Letica timer-module).

Los primeros registros de la tasa de motilidad de los animales muestran una gran fluctuación estadística. En los días siguientes, estas fluctuaciones de los resultados van disminuyendo hasta hacerse estadísticamente no significativas. En este momento, la tasa de motilidad espontánea se halla estabilizada, iniciándose la inyección de los fármacos a estudiar (ver gráfica nº 1). Una vez estabilizada la tasa de motilidad, las ratas se introducen diariamente y a la misma hora en la jaula de Skinner durante 15 minutos. De estos 15 minutos, se contabilizan sólo los 10 últimos; pues los resultados de los 5 primeros minutos son muy variables debido a los movimientos de exploración de la rata.

b) ESTIMULACION ELECTRICA CEREBRAL.

La estimulación eléctrica del cerebro consistió en un tren de ondas cuadradas monofásicas negativas de 0.3 seg. de duración, 0.1 milésima de segundo de duración del pulso y una frecuencia de 100 Hz, generado por un estimulador eléctrico.

FOTOGRAFIA 2

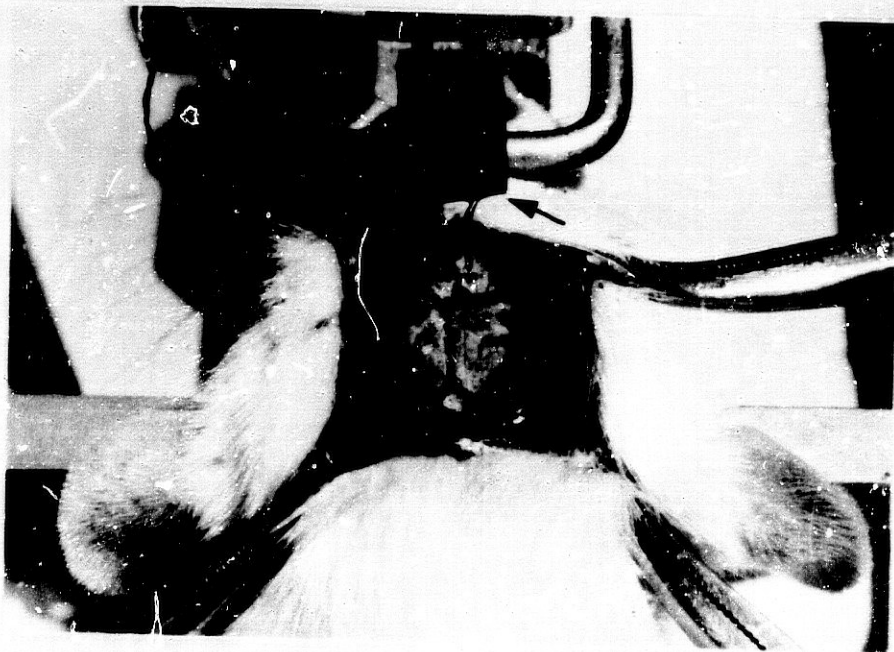
Fijación de la cabeza de la rata en el estereotáxico, mediante las dos barras auriculares y la sujeción del hocico. - El animal es anestesiado previamente.

FOTOGRAFIA 3

Detalle de la calota de la rata. O: punto bregma, usado como referencia de las coordenadas estereotáxicas. La flecha señala el implante (con electrodos bilaterales para la corteza prefrontal medial). Este se halla situado justamente sobre los puntos de la calota por donde será introducido.



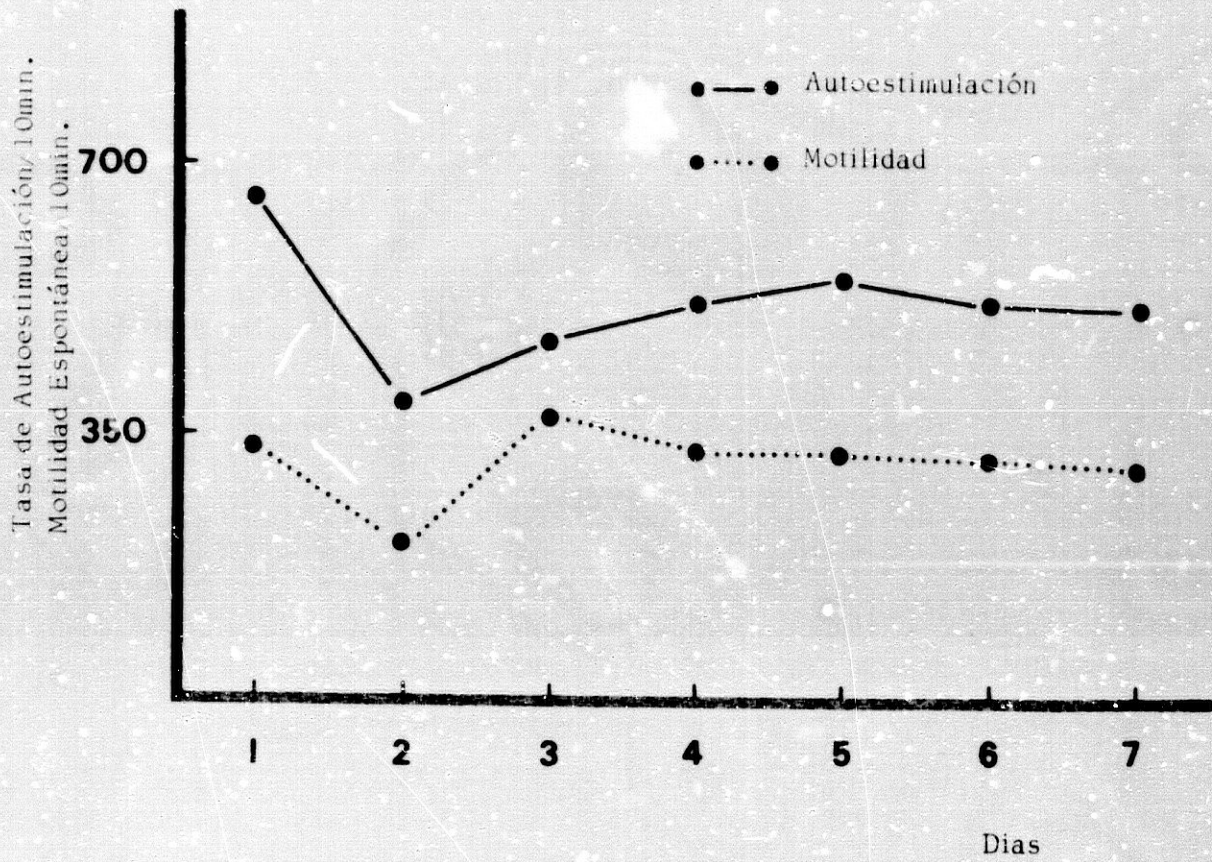
FOTOGRAFIA 2



FOTOGRAFIA 3



FOTOGRAFIA 4.- Rata con implante de electrodos y cánulas a los
20 días de la intervención.



GRAFICA 1

Estabilización de la tasa de autoestimulación y de motilidad en una rata a lo largo de una semana. Las oscilaciones en los resultados - iniciales se van reduciendo conforme se repite estandarizadamente - la prueba.

En nuestros experimentos se utilizaron los siguientes estimuladores: Letica LI 1200, Cibernetic CS-10 y S R I stimulator - cat. nº 6030. La intensidad del estímulo es constante para cada rata; pero variable de un animal a otro. Para conocer la intensidad, se aplicó la Ley de Ohm $I = V/R$. V se conoció por medio de un osciloscopio Telequipment D 61a y la impedancia R , fue la de una resistencia conectada en serie con el circuito. En los experimentos realizados, las intensidades usadas se hallaron entre los valores 0.1-0.6 mA.

Esquemáticamente, este circuito funciona de la siguiente manera: cuando la rata aprieta la palanca de la jaula de autoestimulación, cierra el circuito del temporizador, este da una señal de 0.3 sg de duración al estimulador, el cual produce una corriente pulsante regulable que es observada en el osciloscopio. El número de palancadas que da el animal es registrado por el contador aplicado al sistema. (Un esquema del sistema de autoestimulación puede verse en el esquema nº 1).

La conexión del cable bipolar que conduce el impulso eléctrico al implante de la rata se realiza de la siguiente forma: el polo positivo se une al conector central que va unido a tierra a través de los tornillos de fijación, el otro polo puede ir colocado sobre el conector derecho o izquierdo para estimular la corteza prefrontal derecha o izquierda respectivamente.

b-1) ENTRENAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LA CONDUCTA DE AUTOESTIMULACIÓN.

Una semana después de la operación quirúrgica y tras comple

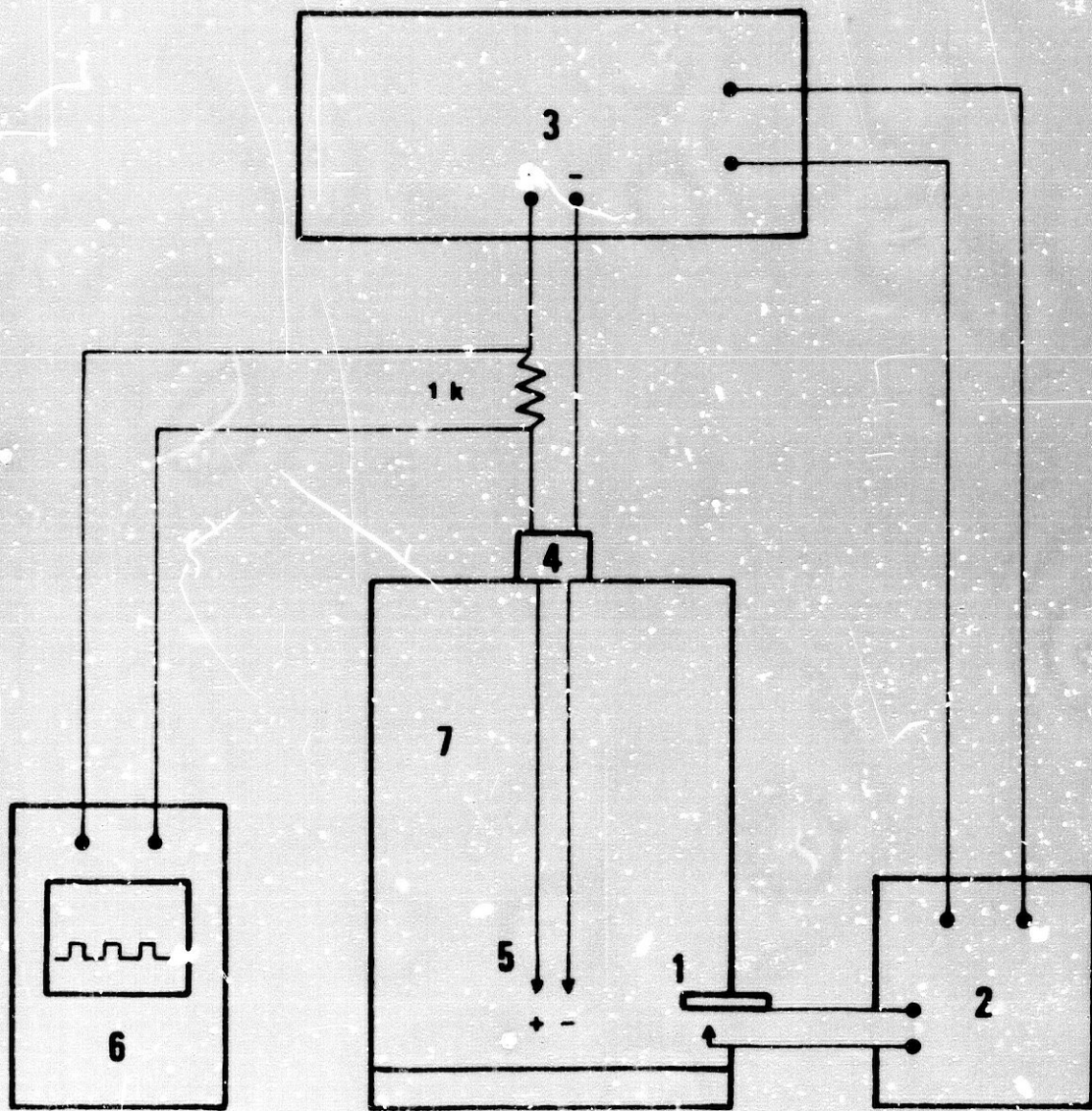
ta recuperación del animal, se introduce en la caja de Skinner por primera vez y se conectan los cables al implante como ha sido indicado anteriormente. Realizado esto, el experimentador cierra el circuito cada vez que el animal se aproxima a la palanca. Las sesiones se realizan diariamente con una duración de 30 min. Estas sesiones se repiten hasta que el animal aprieta espontáneamente la palanca para obtener autoestimulación de su cerebro.

Una vez obtenida la conducta de autoestimulación se realiza una curva intensidad-respuesta. Con esta curva se determina la intensidad umbral, así como la intensidad a la cual la rata muestra reacciones motoras. La intensidad elegida para los experimentos es aquella que esté por encima del umbral y que permita una reproducibilidad de la tasa de autoestimulación sin producir efectos motores o crisis convulsivas.

Elegida la intensidad idónea para cada rata, se inicia un periodo de estabilización de la tasa de autoestimulación similar al realizado con la motilidad espontánea (ver gráfica nº 1). Cuando la tasa de autoestimulación está estabilizada, se inician los experimentos. En ellos se mide la tasa de autoestimulación durante 10 minutos diariamente y a la misma hora.

ESQUEMA 1

Representación del circuito de estimulación eléctrica: 1: Palanca de autestimulación que cierra el circuito del temporizador. 2: Módulo digital y temporizador que envía la señal de duración determinada al estimulador. 3: Estimulador que origina un tren de pulsos cuadrados de características regulables. 4: Distribuidor de mercurio. 5: Conexiones (tierra y electrodo estimulante). 6: Osciloscopio. 7: Caja de Skinner.



c) ESTIMULACION QUIMICA DEL CEREBRO.

Para la realización de esta técnica, se implantan estereotáxicamente en la rata dos cánulas de acero inoxidable unidas a un implante de electrodos mediante cemento plástico dental, - ya referido en otro apartado de este capítulo.

Las dimensiones de las cánulas son: 23 ga de diámetro y 10.5 mm de longitud. Cada cánula lleva un fiador de 27 ga de diámetro y 11 mm de longitud.

El sistema de microinyección intracerebral de fármacos se compone de: una cánula inyectora de 29 ga de diámetro y 11.5 mm de longitud, conectada por medio de un tubo flexible de polietileno (PE - 20) a una microjeringa Hamilton (10 μ l), la cual va colocada en una bomba de infusión Hardward Apparatus - 940 - A. (ver esquema nº 2).

Para efectuar la microinyección de los fármacos a estudiar, se procede de la siguiente manera: se retira el fiador de la cánula guía, por la que se introduce la cánula inyectora hasta el límite marcado por el extremo del tubo de polietileno. Seguidamente se inyecta 1 μ l de disolución del fármaco en un tiempo de 30 seg. Finalizado este, se espera 30 seg antes de retirar la cánula inyectora con el fin de permitir la difusión de la droga. Terminado este periodo, se retira la cánula inyectora e inmediatamente se coloca el fiador. A continuación se espera 15 minutos, y, pasados los cuales, el animal se introduce en la caja de autoestimulación, en la que se registra la tasa de autoestimulación -

durante 5 minutos del área inyectada (en nuestros experimentos la corteza prefrontal derecha) como de la contralateral, cuyos resultados se usan como control. (la figura nº 9 muestra la localización intracerebral de la cánula guía y del electrodo estimulador).

Al finalizar los experimentos, se les inyecta a los animales a través de cada cánula un volumen de 0.1 μ l de tinta china en un intervalo de 30 seg., con el objeto de facilitar la verificación de los lugares de inyección y del área de difusión de las drogas administradas.

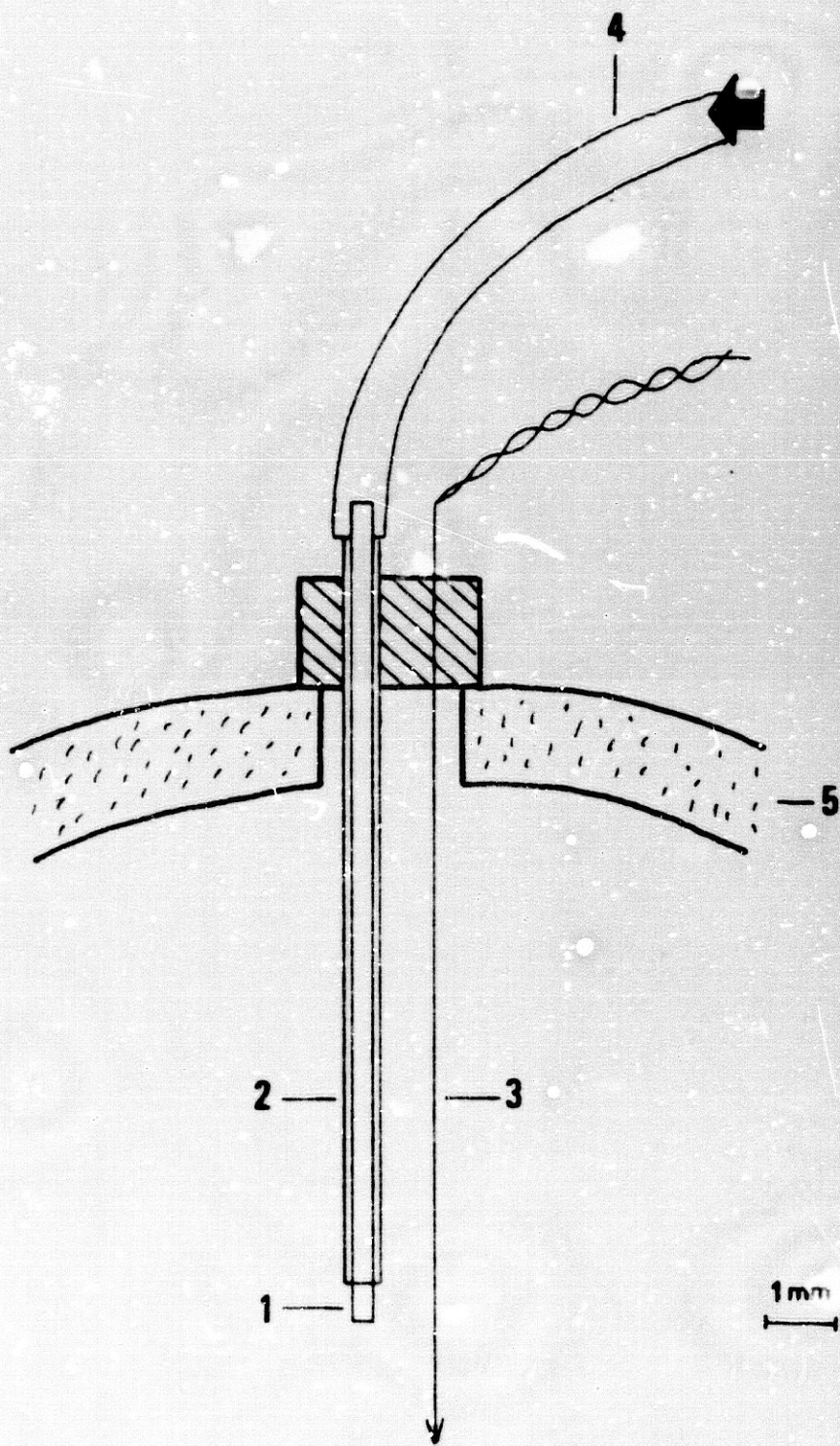
5) HISTOLOGIA.

Al finalizar los experimentos todos los animales son sacrificados mediante la inyección de una dosis letal de Equitensina. A continuación los animales son perfundidos con suero salino isotónico heparinizado al 1%, terminada la perfusión, se extraen los cerebros y se colocan en un microtomo de congelación (Reichert Austria Nr 333337). En este, los cerebros se cortan en secciones de 25 μ m. Las secciones son teñidas mediante el método de Kluver y Barrera , 1953.

Por medio de esta técnica las fibras mielínicas aparecen teñidas de azul y las células nerviosas de rosado-violeta. Las preparaciones histológicas son estudiadas al microscopio.

ESQUEMA 2

Representación de la preparación utilizada para las microinyecciones intracerebrales y registro de la tasa de autoestimulación en el área inyectada. 1: Cánula inyectora. 2: Cánula-guía. 3: Electrodo estimulador. 4: Tubo de polietileno que va unido a la bomba de infusión por medio de una microjeringa. 5: Calota de la rata.



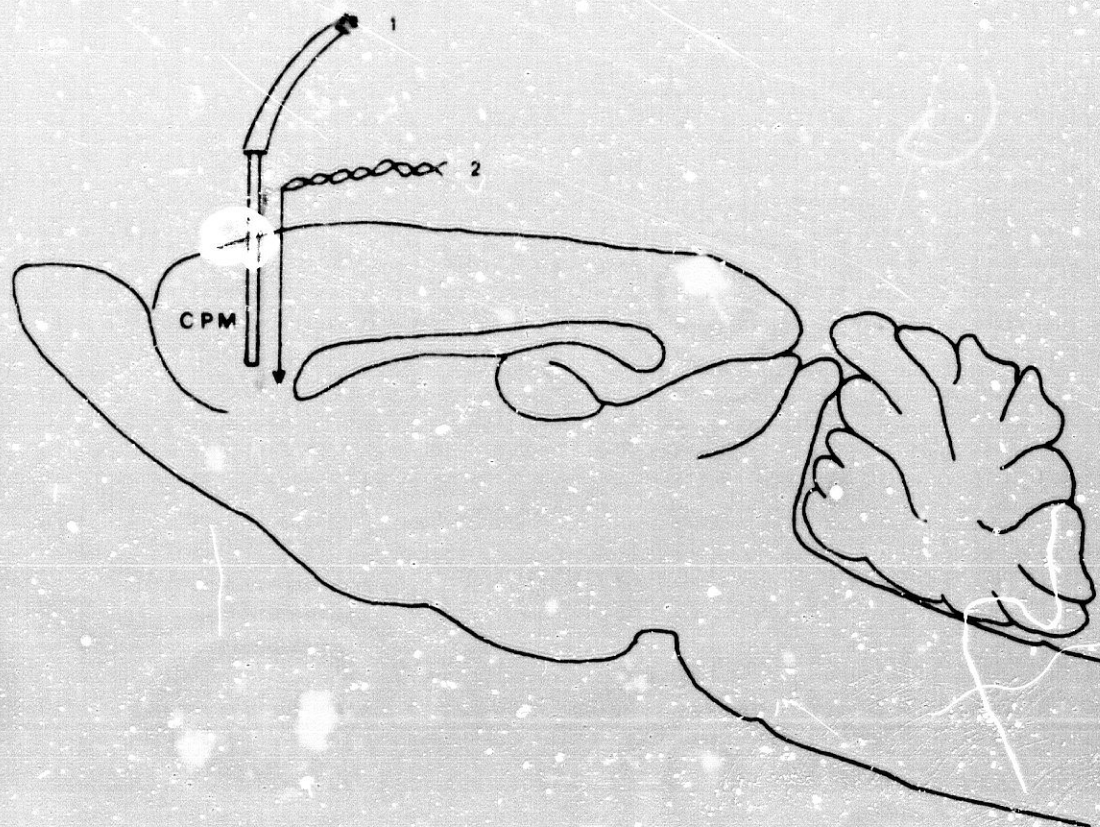


FIGURA 9

Representación esquemática de la preparación quirúrgica de los animales utilizados en los experimentos 2 y 4. En ellos, se implantaron: 1 cánula para microinyección y 2 electrodo para autoestimulación en la corteza prefrontal medial derecha e izquiersa de los animales.

Para la localización de los electrodos se usa un macroscopio - mediante el cual se determina el lugar exacto en donde se sitúa la punta de los electrodos y cánulas.

6) ESTADISTICA .

Los métodos estadísticos empleados han sido:

a) ANÁLISIS DE LA VARIANZA DOBLE CON UN SOLO ELEMENTO POR CASILLA

Sean dos tipos de tratamientos, A y B, que se pueden aplicar a la vez sobre un mismo individuo.

Sean p los modos en que se puede presentar el tratamiento A y q los del B. Sea X_{ij} = valor de una variable X en un individuo al que se le ha aplicado la modalidad i del 1º tratamiento y la j del 2º. Y sean:

$$X_{i.} = \frac{\sum_j X_{ij}}{q} \quad X_{.j} = \frac{\sum_i X_{ij}}{p} \quad X_{...} = \frac{\sum_{ij} X_{ij}}{qp}$$

ó medias de la modalidad i del tratamiento A, modalidad j del B y media general. En las \sum anteriores y en las que siguen.

$$i = 1, 2, \dots, p \quad j = 1, 2, \dots, q$$

En estadística, suele denominarse por fila i a los valores $X_{i.}$

$x_{i2} \dots x_{iq}$ y por columna j a los $x_{1j}, x_{2j} \dots x_{pj}$

A continuación se construye la siguiente tabla de análisis de la varianza:

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadros	$F_{\text{exp.}}$
Entre filas	$(p-1)$	$S_A^2 = q \cdot \sum_i (x_{i.} - x_{..})^2$	$F_A = \frac{S_A^2}{S_{AB}^2} \cdot \frac{(p-1)(q-1)}{(p-1)}$
Entre columnas	$(q-1)$	$S_B^2 = p \cdot \sum_j (x_{.j} - x_{..})^2$	$F_B = \frac{S_B^2}{S_{AB}^2} \cdot \frac{(p-1)(q-1)}{(q-1)}$
Interacción	$(p-1)(q-1)$	$S_{AB}^2 = \sum_{ij} (x_{ij} - x_{i.} - x_{.j} + x_{..})^2$	

El objeto de lo anterior es doble:

1ª.- ¿Hay alguna diferencia entre los efectos de las p modalidades del tratamiento A?

2ª.- ¿Hay alguna diferencia entre los efectos de las q modalidades del tratamiento B?

Para la 1ª pregunta se calcula $F_{\text{teórica}}$ con $(p-1)$ y $(p-1) \cdot (q-1)$ g.l. al error del $\alpha\%$ en la tabla de Snedecor y:

Si $F_A > F_{\text{teor}}$ entonces al menos una de las modalidades del Factor A actúa de un modo significativamente distinto al resto con un error del $\alpha\%$.

Si $F_A < F_{\text{teor}}$ entonces todas las modalidades del factor A actúa de igual modo.

Para la 2ª pregunta se calcula F_{teor} con $(q - 1)$ y $(p - 1)$ $(q - 1)$ g.l. al α % de error y se le compara con la F_B . La discusión es similar a la anterior.

b) TEST DE DUNNET.

Una vez realizado el análisis de la varianza, interés - comparar cada una de las dosis con el grupo control; para ello, se ha seguido el método de Dunnett que consiste en:

1.- Una vez realizado el análisis de la varianza, sea S la varianza "dentro" y f su número de grados de libertad.

2.- Sea \bar{X}_0 y n_0 la media y tamaño del grupo control y sea \bar{X}_i y n_i la media y tamaño del grupo - dosis, número i . Entonces se calcula la cantidad:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_0|}{\sqrt{S^2 (1/n_0 + 1/n_i)}}$$

QUE PARA TAMAÑOS MUESTRALES IGUALES SE TRANSFORMA EN:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_0|}{\sqrt{2S^2/n}}$$

3.- Si se nota por K el número de grupos excluido el control, se busca en las tablas correspondientes la cantidad teórica $t(k, f, \gamma, \rho)$ donde ρ es el cociente:

$$\rho = \frac{\min. n_i}{n_0 + \min. n_i}$$

Y es la confianza.

Así, si $t_{\text{exp}} > t(K, f, \gamma, \rho)$ se rechaza la hipótesis nula $\mu_i = \mu_0$ y por tanto se concluye que el grupo i tiene media distinta al grupo control.

7) DETALLE DE LA METODOLOGIA SEGUIDA EN CADA UNO DE LOS EXPERI-
MENTOS DE ESTA TESINA.

EXPERIMENTO 1

Para este experimento se utilizaron 10 ratas de la raza - wistar en las que se implantaron electrodos monopolares para au toestimulación en la corteza prefrontal medial siguiendo las - coordenadas estereotáxicas del atlas de König y Klippel (1967): 2.5 mm anterior a Bregma, 0.8 mm lateral a la línea media y 4 mm de profundidad.

La droga utilizada fue el spiroperidol, administrado intra peritonealmente a las dosis de 0.016, 0.032, 0.064, y 0.128 mg/ Kg disuelto en ácido tartárico 1/100 M. Una vez inyectada la - droga, se esperaron 2 horas y a continuación se pasaron los ani males por la jaula de motilidad, permaneciendo en ella 15 min. Se contabilizaron sólo los 10 últimos minutos por las razones - ya aducidas en el apartado -a- de este capítulo. Realizado esto, se paso seguidamente a la jaula de autoestimulación en la que - se controló la tasa de autoestimulación durante 10 minutos de - la corteza prefrontal medial de las ratas.

Entre dosis y dosis se realizó un control de la autoestimu- lación de los animales para comprobar su total recuperación.

EXPERIMENTO 2

Para este experimento se usaron 5 ratas de la raza wistar, en las que se implantaron electrodos monopolares para autoestimulación y cánulas-guía para microinyección. Los electrodos se situaron en la corteza prefrontal siguiendo las coordenadas estereotáxicas del atlas de König y Klippel 1967, anteriormente señaladas. Las cánulas-guía se situaron 1 mm anterior a la posición de los electrodos, y su punta 2.5 mm superior a la punta de los electrodos. La cánula inyectora se introdujo hasta que su extremo se situó 1.5 mm superior a la punta del electrodo ipsilateral, en esta posición se realizó la microinyección del fármaco.

La droga utilizada fue el pimozide administrado intracerebralmente en la corteza prefrontal de los animales, en la posición indicada anteriormente y a las dosis de 1, 2, y 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, disueltos en ácido tartárico 1/100 M. La cantidad inyectada fue de 1 μl .

Una vez que se realizó la microinyección unilateral, se esperó 15 minutos por las razones expuestas en el apartado -c- de este capítulo, y seguidamente se controló durante 5 minutos la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal inyectada, y a continuación la de la corteza prefrontal contralateral durante otros 5 minutos y que fue usada como control.

EXPERIMENTO 3

En este experimento se han utilizado 9 ratas de la raza wistar, a las que se les implantaron electrodos monopolares en la corteza prefrontal medial según ha sido detallado anteriormente.

La droga utilizada fue el sulpiride administrado intraperitonealmente a las dosis de 1, 5, 10, 20, y 40 mg/kg disuelto en una solución salina tamponada con ácido acético/acetato sódico.

Una vez inyectado el fármaco, se esperaron 4 horas y a continuación se pasaron los animales por la jaula de motilidad y autoestimulación, siguiendo el patrón anteriormente reseñado.

EXPERIMENTO 4

En este experimento se usaron 7 ratas de la raza wistar, a las que se les inyectó sulpiride intracerebralmente y según la técnica descrita en el experimento 2. Las dosis utilizadas fueron 10, 20, y 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. El fármaco se disolvió en una solución salina tamponada con ácido acético/acetato sódico. Posteriormente se procedió según ha sido indicado en el experimento 2.

EXPERIMENTO 5

En este experimento se utilizaron 10 ratas de la raza wis-

tar. La droga utilizada fue la apomorfina, administrada por vía subcutánea y a las dosis de 0.075, 0.15, 0.3, 0.6 y 1.2 mg/Kg., disuelta en salino al 0.9% y con 0.5mg/ml de ácido ascórbico.

Una vez inyectado el fármaco, se esperaron 10min. y a continuación se pasaron los animales por la jaula de motilidad y - autoestimulación, según se ha descrito anteriormente.

EXPERIMENTO 6

En este experimento se utilizaron 10 ratas de la raza wistar. La droga utilizada fue la bromocriptina, administrada por vía subcutánea y a las dosis de 1, 2, 4 y 8 mg/Kg., disuelta en agua destilada con unas gotas de etanol al 70% .

Una vez inyectado el fármaco, se esperaron 20min. y a continuación se pasaron los animales por la jaula de motilidad y - autoestimulación, según se ha descrito anteriormente.

EXPERIMENTO 7

En este experimento se utilizaron 10 ratas de la raza wistar. La droga utilizada fue el lergotrile, administrada por vía subcutánea y a las dosis de 1, 2, 4 y 8 mg/Kg., disuelta en agua destilada con unas gotas de etanol al 70%.

Inyectado el fármaco, se esperaron 20min. y a continuación se pasaron los animales por la jaula de motilidad y autoestimulación, según se ha descrito anteriormente.

TABLA 1

<u>EXPERIMENTO</u>	<u>Nº DE RATAS</u>	<u>RAZA</u>	<u>ELECTRODOS</u>	<u>CANULAS</u>
1	10	wistar	C. prefron tal medial	-
2	5	wistar	C. prefron tal medial	C. prefron tal medial
3	9	wistar	C. prefron tal medial	-
4	7	wistar	C. prefron tal medial	C. prefron tal medial
5	10	wistar	C. prefron tal medial	-
6	10	wistar	C. prefron tal medial	-
7	10	wistar	C. prefron tal medial	-

TABLA 2

<u>EXPERIMENTO</u>	<u>DRUGA</u>	<u>VIA</u>	<u>DOSES</u>	<u>SOLVENTE</u>
1	Spiroperidol	intraperitoneal	0.016 mg/Kg 0.032 mg/Kg 0.064 mg/kg 0.128 mg/kg	Tartárico 1% M.
2	Pimozide	intracerebral	1 µg/µl 2 µg/µl 4 µg/µl	Tartárico 1% M.
3	Sulpiride	intraperitoneal	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg 20 mg/kg 40 mg/kg	Salino tamp nado con ac. acético/ace- tato sódico
4	Sulpiride	intracerebral	10 µg/µl 20 µg/µl 40 µg/µl	Salino tamp nado con ac. acético/ace- tato sódico
5	Apomorfina	subcutánea	0.075 mg/kg 0.15 mg/kg 0.3 mg/kg 0.6 mg/kg 1.2 mg/kg	Salino 0.9 % con 0.5mg/ml de ac. ascóy- bico.
6	Bromocriptina	subcutánea	1 mg/kg 2 mg/kg 4 mg/kg 8 mg/kg	Agua destila da con etanol al 70 %.
7	Lergotrile	subcutánea	1 mg/kg 2 mg/kg 4 mg/kg 8 mg/kg	Agua destila da con etanol al 70 %.

RÉSULTADOS

EXPERIMENTO 1

Efectos del spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial y sobre la motilidad espontánea de la rata.

La gráfica nº 2 muestra la inhibición dosis-relacionada de la tasa de autoestimulación producida por el spiroperidol. Esta inhibición fue estadísticamente significativa a las dosis de 0.064 y 0.128 mg/kg. ($p < 0.01$). Estos resultados se exponen en la tabla nº 3.

En la gráfica nº 3, se representan los efectos del spiroperidol sobre la tasa de motilidad espontánea. En ella, puede observarse como el spiroperidol produce una inhibición dosis-relacionada de la motilidad. A igual que en el caso anterior, esta inhibición fue estadísticamente significativa a las dosis de 0.064 y 0.128 mg/kg. ($p < 0.01$). Los resultados de esta experiencia se expresan en la tabla nº 4.

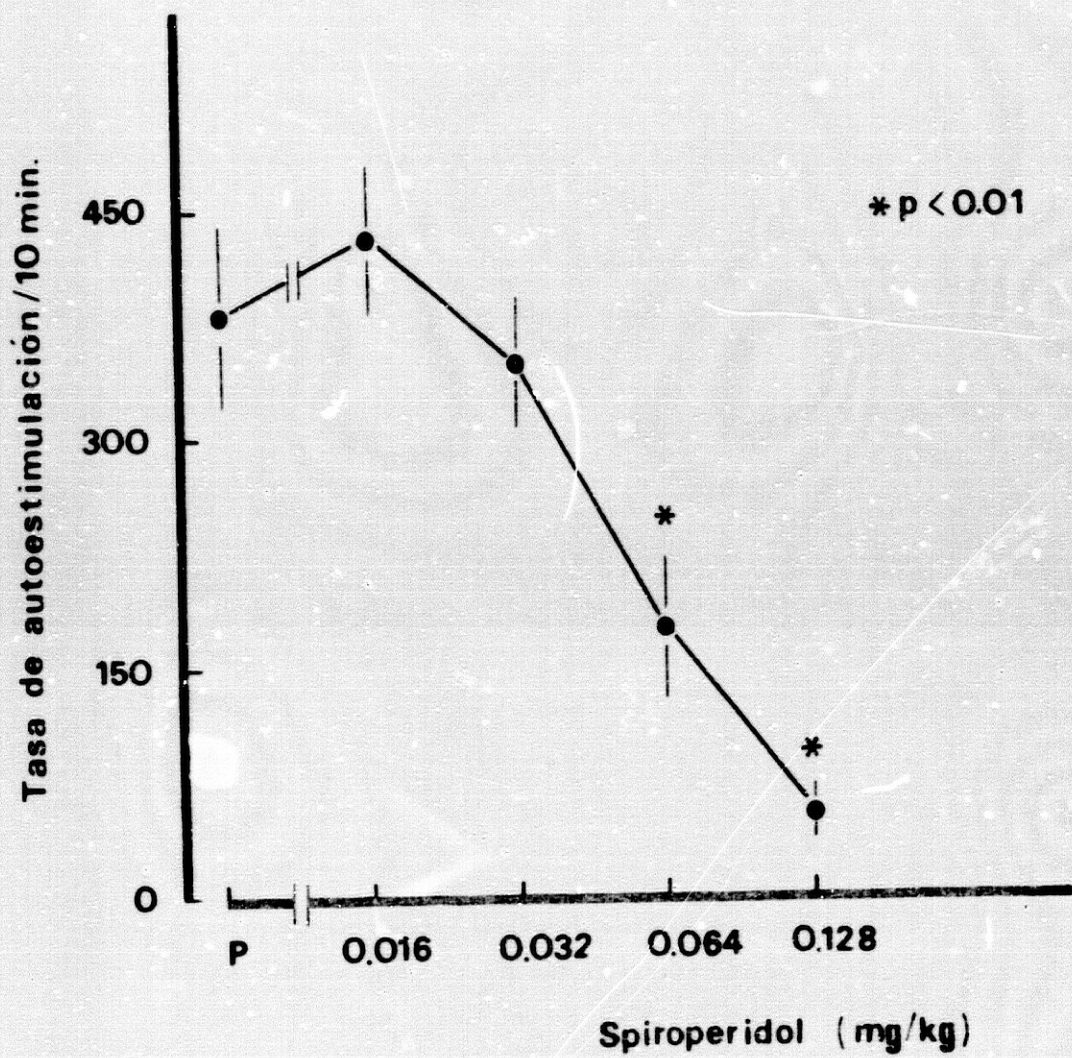
La gráfica nº 4 representa los valores en tantos por cien de los resultados expresados en las tablas 3 y 4. En ella, puede observarse la similitud de efectos del spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación y motilidad espontánea de la rata.

AUTOESTIMULACION

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	430.2	41.4 (4)	
Spiroperidol 0.016 mg/kg	431.2	48.1 (4)	n.s.
Spiroperidol 0.032 mg/kg	347.7	42.3 (4)	n.s.
Spiroperidol 0.064 mg/kg	174.7	47.2 (4)	0.01
Spiroperidol 0.128 mg/kg	56.2	17.3 (4)	0.01

TABLA 3

Acción del spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación. X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 2

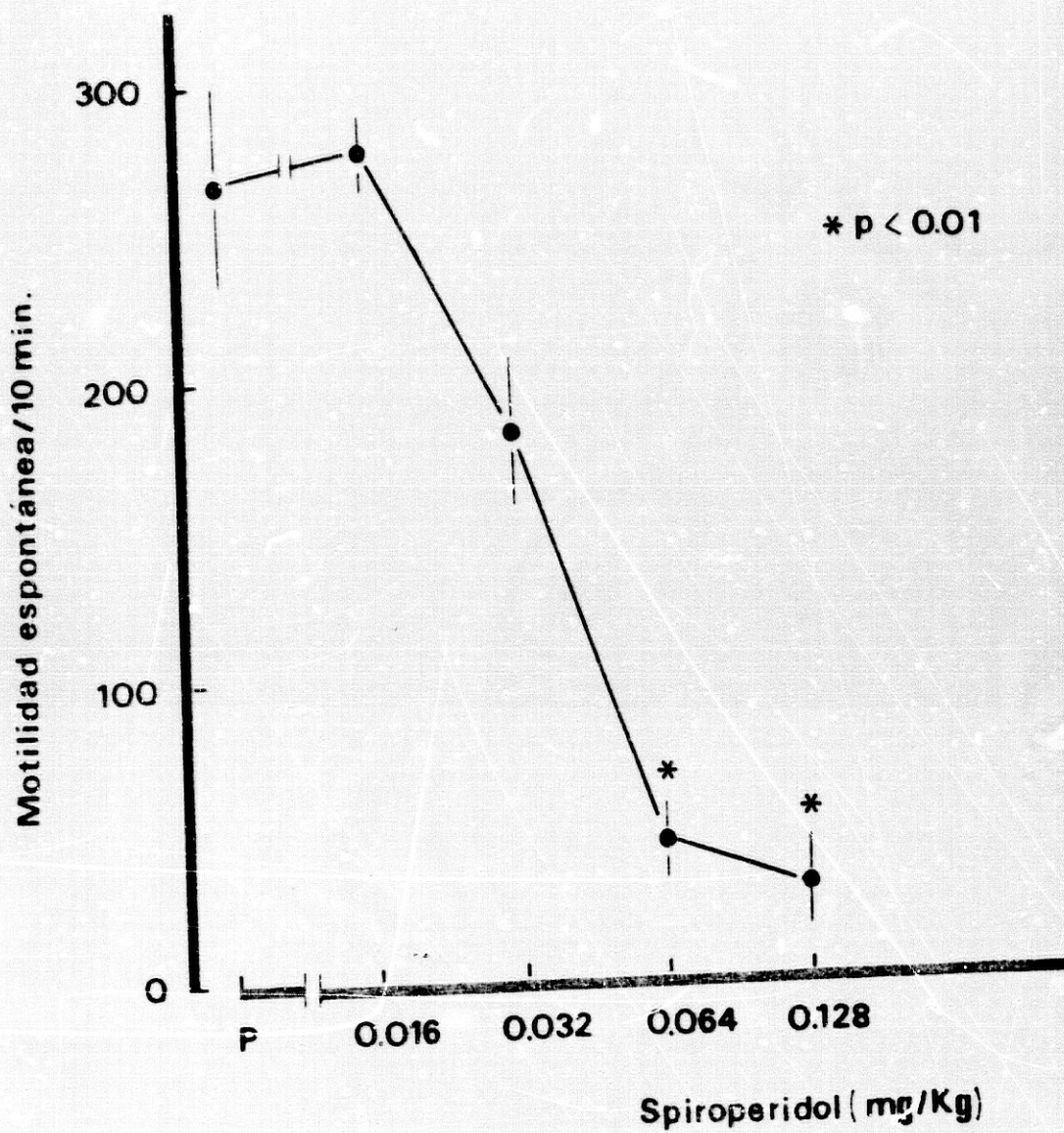
Curva dosis-respuesta de los efectos del spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación en un grupo de 4 ratas. - Representación de los datos recogidos en la tabla 3.

MOTILIDAD

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	243.2	57.5 (4)	
Spiroperidol 0.016 mg/kg	277.5	11.3 (4)	n.s.
Spiroperidol 0.032 mg/kg	182.0	25.8 (4)	n.s.
Spiroperidol 0.064 mg/kg	45.0	13.5 (4)	0.01
Spiroperidol 0.128 mg/kg	29.2	29.7 (4)	0.01

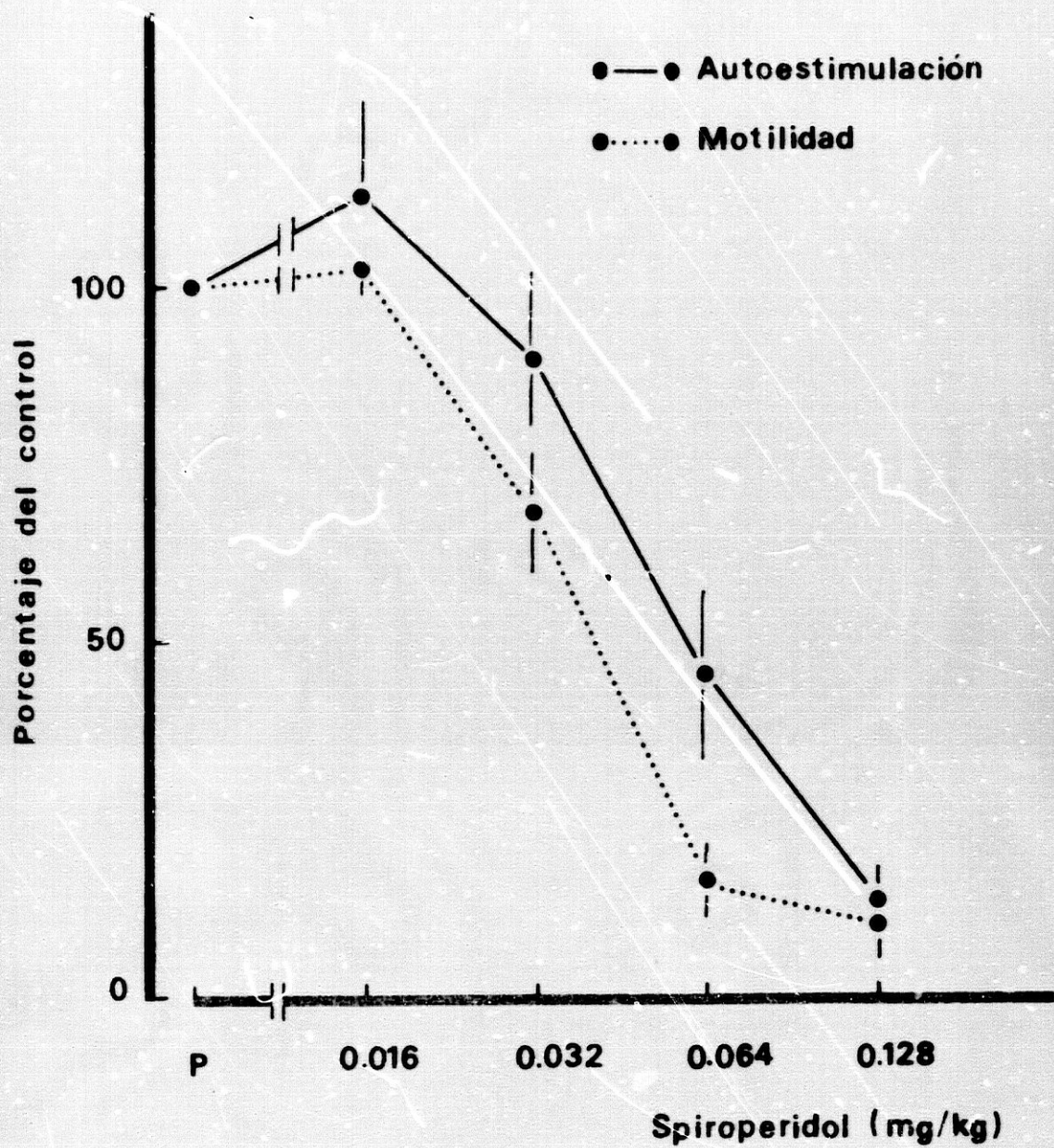
TABLA 4

Acción del spiroperidol sobre la motilidad espontánea. X = me-
dia del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la me-
dia. Entre paréntesis número de animales empleados. P = signi-
ficación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 3

Curva dosis-respuesta de los efectos del spiroperidol sobre la motilidad espontánea de un grupo de 4 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 4.



GRAFICA 4

Representación en tantos por cien de los valores expresados en las tablas 3 y 4.

EXPERIMENTO 2

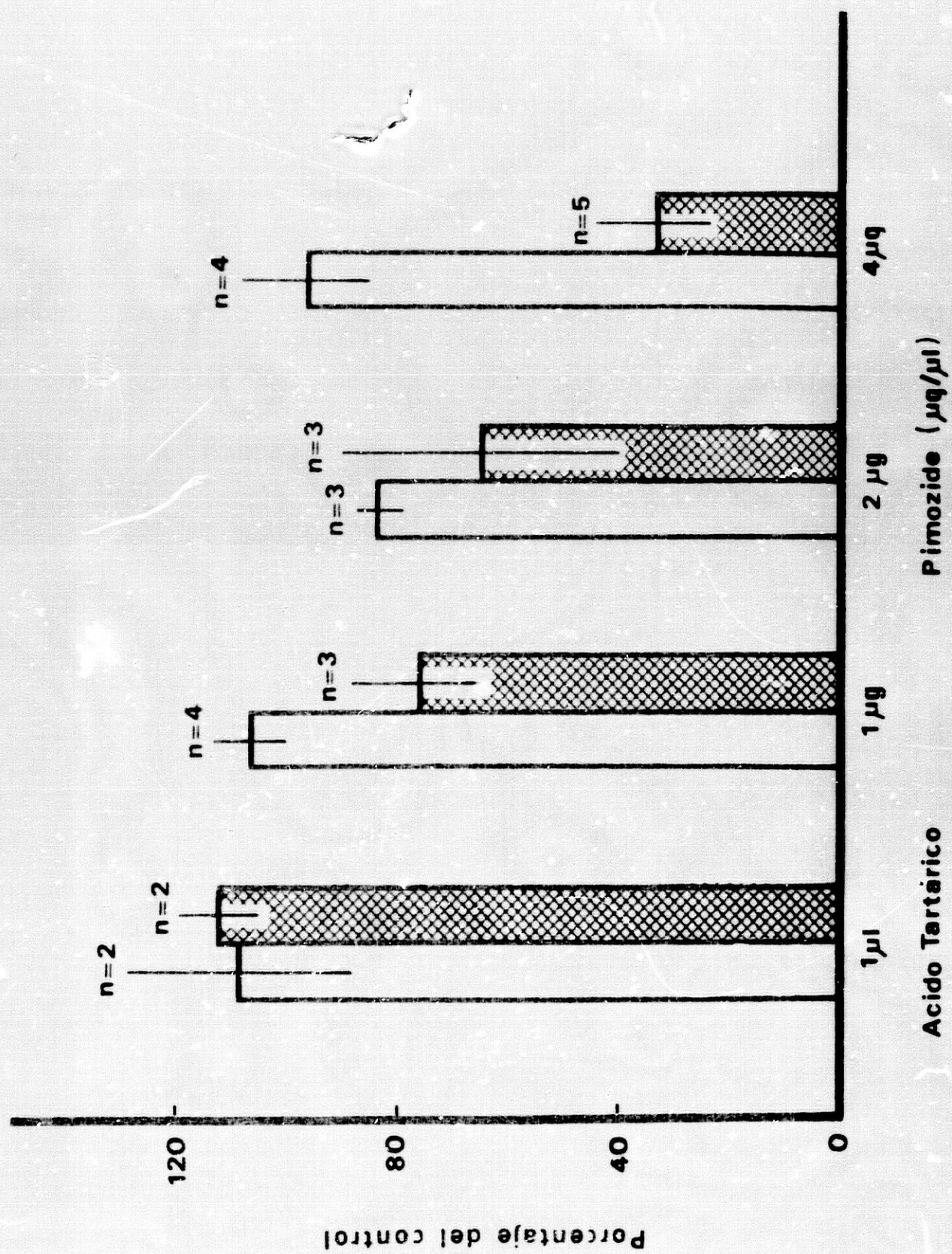
Efectos de la inyección intracerebral de pimozi de sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

La inyección intracerebral de pimozide produjo un descenso dosis-relacionado de la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial inyectada. La tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial contralateral (área no inyectada) no mostró modificaciones estadísticamente significativas.

En la gráfica nº 5 se muestran estos resultados expresados en tantos por cien de los valores control.

GRAFICA 5

Representación en tantos por cien respecto del control de los efectos de la inyección intracerebral del pimozide y de su solvente el ácido tartárico, sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata. Las barras ralladas - representan los resultados de la corteza prefrontal inyectada. Las barras blancas los de la corteza prefrontal medial contralateral (no inyectada). n = número de animales empleados. Las barras representan las medias de los valores y las rayas verticales el error estándar de la media.



EXPERIMENTO 3

Efectos del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial y sobre la motilidad espontánea de la rata.

La gráfica 6 representa los efectos del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación expresadas en la tabla 5. Como puede verse la dosis de 40 mg/Kg produjo, un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$) de la tasa de autoestimulación. El resto de las dosis empleadas no modificaron significativamente este parámetro.

Los efectos del sulpiride sobre la motilidad espontánea se muestran en la gráfica 7. En ella se puede ver - que de las dosis utilizadas las dos mayores 20mg/Kg y 40mg/Kg - produjeron una inhibición estadísticamente significativa ($p < 0.01$ y $p < 0.05$ respectivamente) de la motilidad. El resto de - las dosis empleadas no la modificaron significativamente. Estos resultados se exponen en la tabla 6.

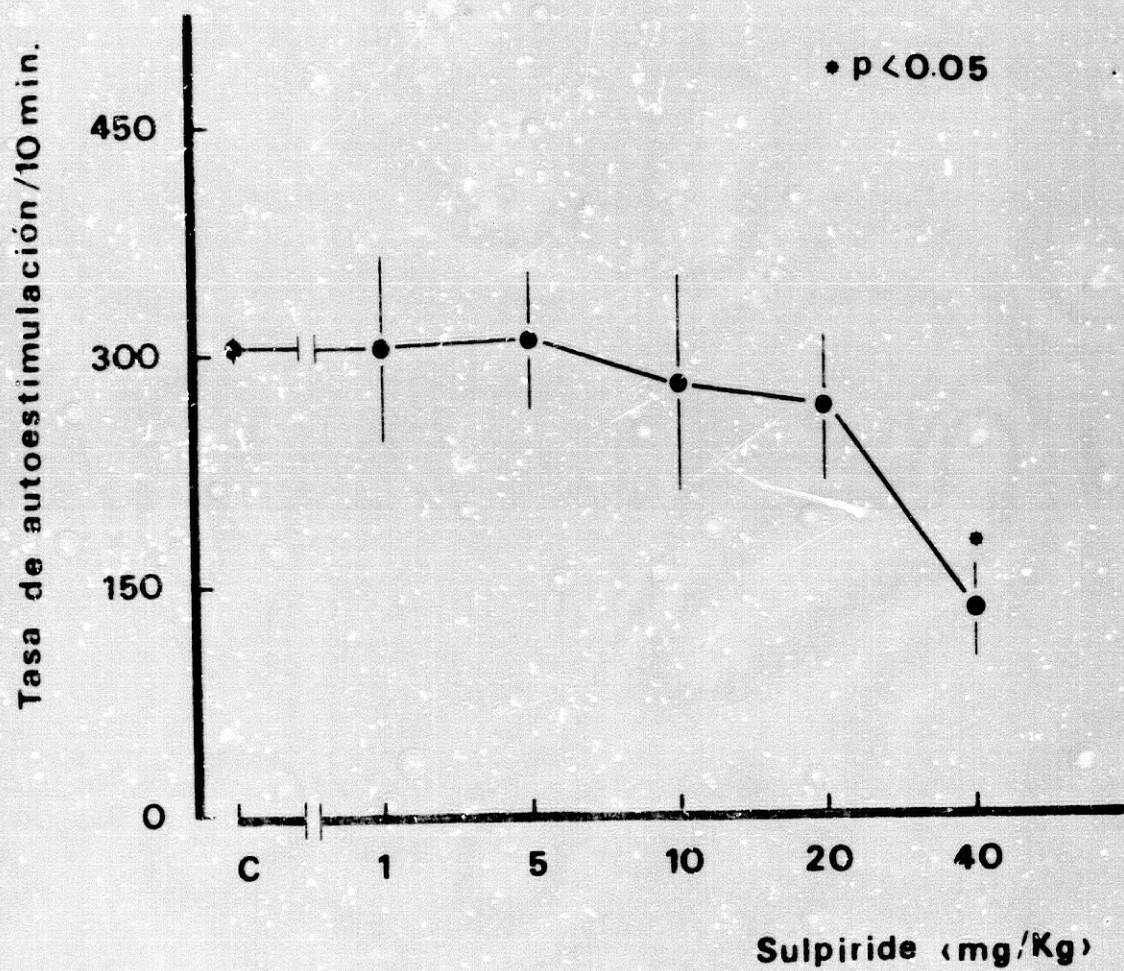
La gráfica nº8 muestra la representación en - tantos por cien de los resultados expuestos en las tablas 5 y 6.

AUTOESTIMULACION

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	305.9	7.0 (6)	
Sulpiride 1 mg/kg	304.2	63.2 (6)	n.s.
Sulpiride 5 mg/kg	310.5	42.2 (6)	n.s.
Sulpiride 10 mg/kg	283.0	70.4 (5)	n.s.
Sulpiride 20 mg/kg	263.3	44.1 (6)	n.s.
Sulpiride 40 mg/kg	133.0	38.9 (5)	0.05

TABLA 5

Acción del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación. X = me
dia del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media
Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación
estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 6

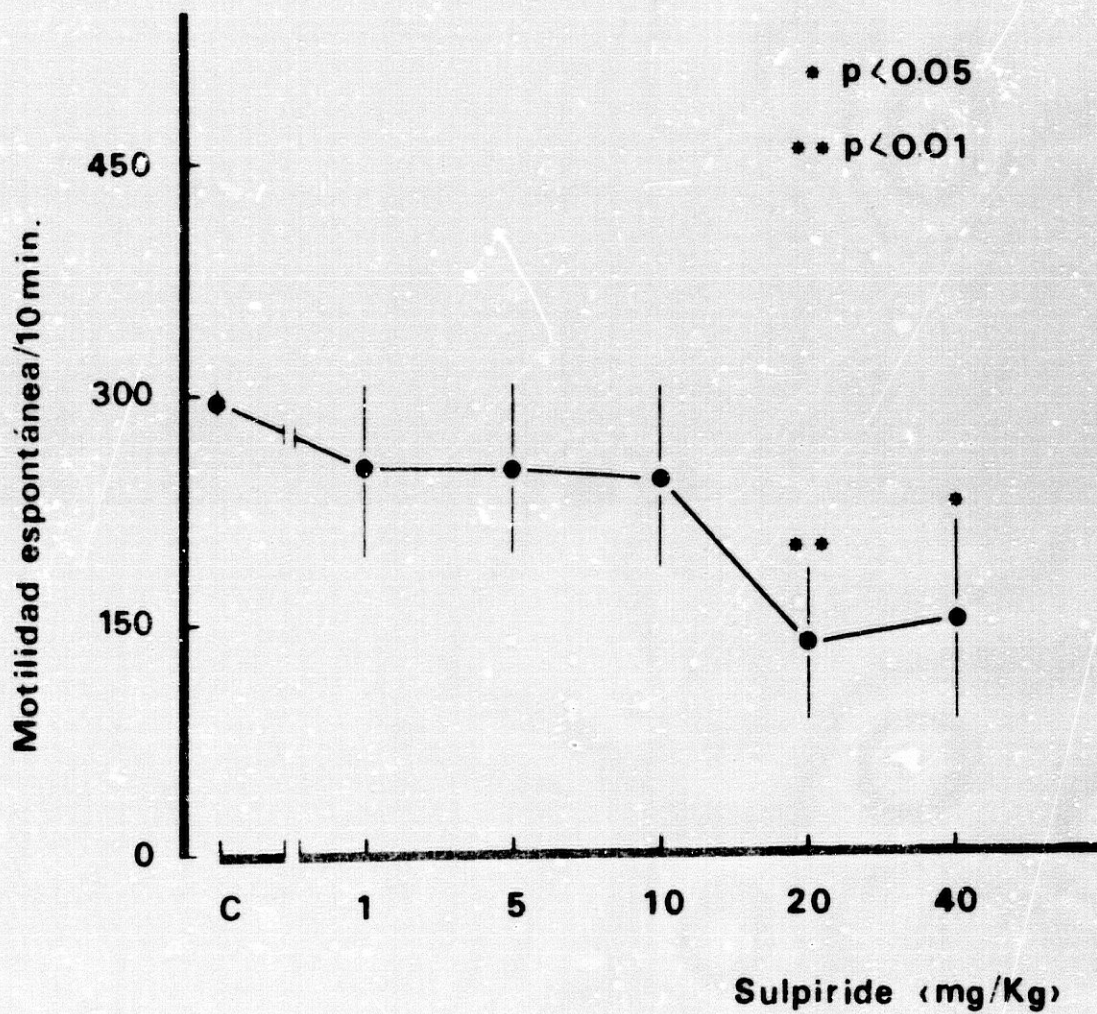
Curva dosis-respuesta de los efectos del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación en un grupo de 6 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 5

MOTILIDAD

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>F</u>
CONTROL	295.3	8.0 (6)	
Sulpiride 1 mg/kg	251.3	58.2 (3)	n.s.
Sulpiride 5 mg/kg	249.2	59.1 (6)	n.s.
Sulpiride 10 mg/kg	243.4	65.0 (5)	n.s.
Sulpiride 20 mg/kg	136.5	47.7 (6)	0.01
Sulpiride 40 mg/kg	151.3	64.5 (6)	0.05

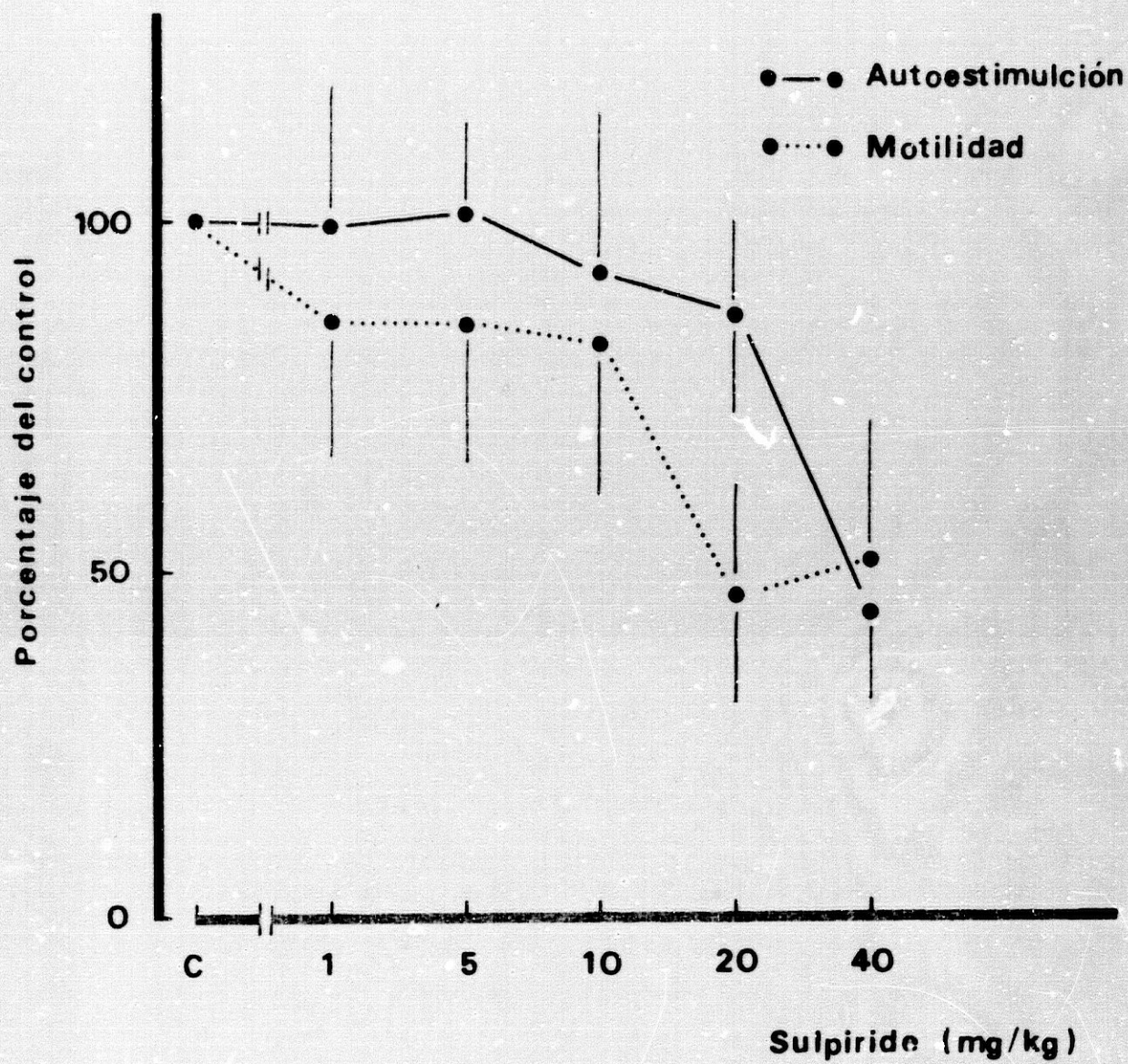
TABLA 6

Acción del sulpiride sobre la motilidad espontánea. X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media. - Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 7

Curva dosis-respuesta de los efectos del sulpiride sobre la motilidad espontánea en un grupo de 6 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 6.



GRAFICA B

Representación en tantos por cien de los valores expresados en las tablas 5 y 6.

EXPERIMENTO 4

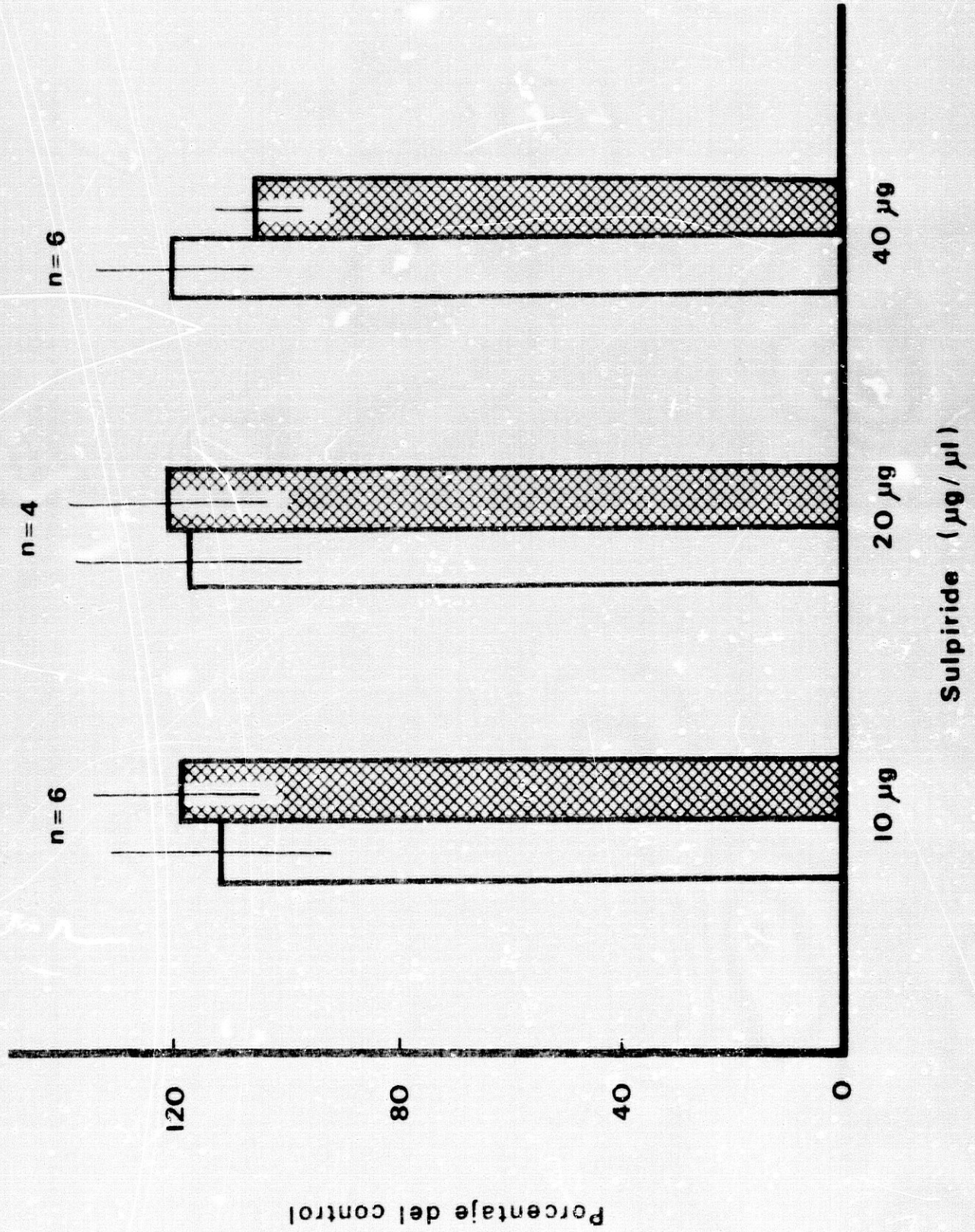
Efectos de la inyección intracerebral del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

La inyección intracraneal de sulpiride en las dosis usadas, no produjo modificación estadísticamente significativa en la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial inyectada, respecto de la corteza prefrontal contralateral ni respecto del control.

La gráfica nº 9 representa estos resultados en tantos por cien respecto del control.

GRAFICA 9

Representación en tantos por cien respecto del control de los efectos de la inyección intracerebral del sulpiride sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata. Las barras ralladas representan los resultados de la corteza prefrontal inyectada. Las barras blancas los de la corteza prefrontal medial contralateral (no inyectada). n = número de animales empleados. Las barras representan la media y las rayas verticales al error estándar.



EXPERIMENTO 5

Efectos de la apomorfina sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata y sobre la motilidad espontánea del animal.

La gráfica nº 10 muestra la inhibición dosis relacionada producida por la apomorfina sobre la tasa de autoestimulación. Esta inhibición fue estadísticamente significativa a las dosis 0.15, 0.3, 0.6, y 1.2 mg/Kg. ($p < 0.01$). Estos resultados son expresados en la tabla nº 7.

La gráfica nº 11 representa los efectos de la apomorfina sobre la motilidad espontánea de los animales. En ella puede observarse como la apomorfina presenta efectos diferenciales dependiendo de las dosis empleadas. Así, a las dosis de 0.075 y 0.15 mg/Kg la apomorfina produjo un descenso estadísticamente significativo de la motilidad ($p < 0.01$). Por el contrario a las dosis de 0.3, 0.6 y 1.2 mg/Kg. produjo un aumento de la motilidad, que en la última dosis 1.2 mg/Kg. fue estadísticamente significativo ($p < 0.01$). Estos resultados se exponen en la tabla nº 8.

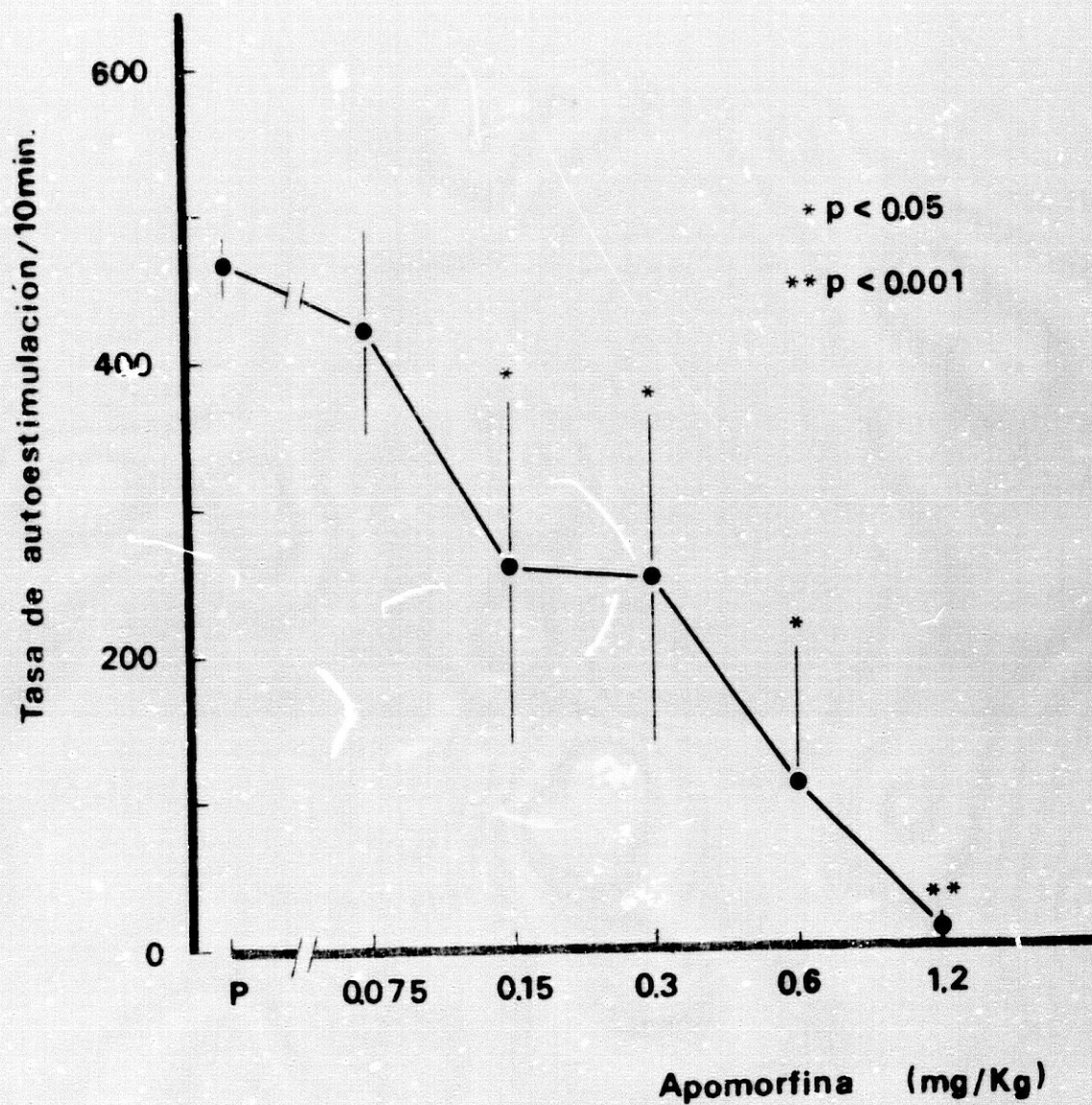
La gráfica 12 expresa la representación en tantos por cien de los resultados expuestos en las tablas 7 y 8. En ella se puede observar los efectos diferenciales de la apomorfina sobre la autoestimulación y motilidad espontánea a partir de la dosis de 0.3 mg/Kg.

AUTOESTIMULACION

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	458.3	23.3 (4)	
Apomorfina 0.075 mg/kg	421.2	69.2 (4)	n.s.
Apomorfina 0.15 mg/kg	258.7	114.7 (4)	0.01
Apomorfina 0.3 mg/kg	253.0	111.3 (4)	0.01
Apomorfina 0.6 mg/kg	104.2	97.6 (4)	0.01
Apomorfina 1.2 mg/kg	7.7	7.7 (4)	0.01

TABLA 7

Acción de la apomorfina sobre la tasa de autoestimulación. X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 10

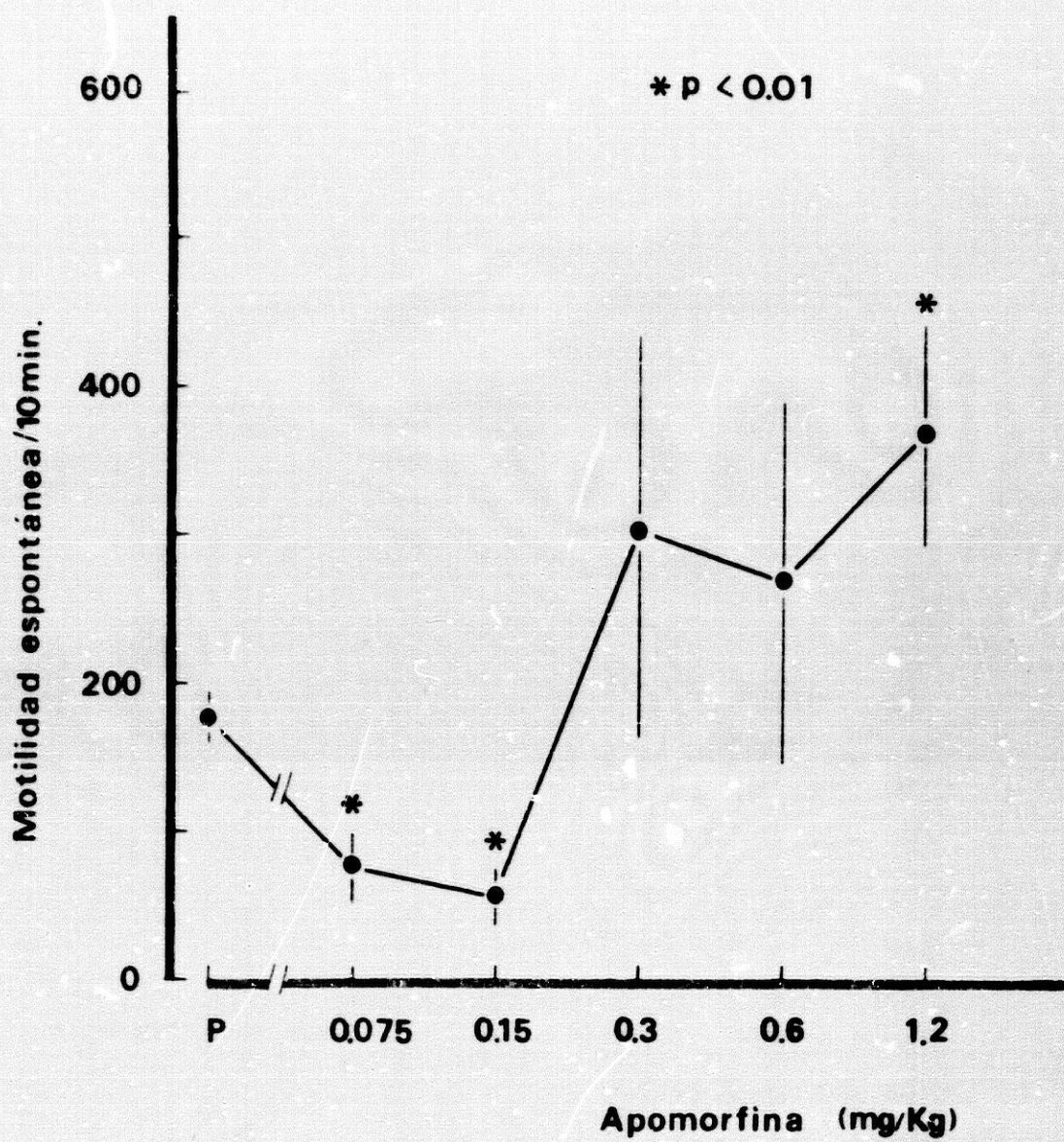
Curva dosis-respuesta de los efectos de la apomorfina sobre la tasa de autoestimulación en un grupo de 4 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 7.

MOTILIDAD

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>		<u>P</u>
CONTROL	180.4	17.5 (4)		
Apomorfina 0.075 mg/kg	74.0	22.5 (4)		0.01
Apomorfina 0.15 mg/kg	54.5	19.6 (4)		0.01
Apomorfina 0.3 mg/kg	303.5	135.5 (4)		n.s.
Apomorfina 0.6 mg/kg	269.5	120.6 (4)		n.s.
Apomorfina 1.2 mg/kg	371.5	73.7 (4)		0.01

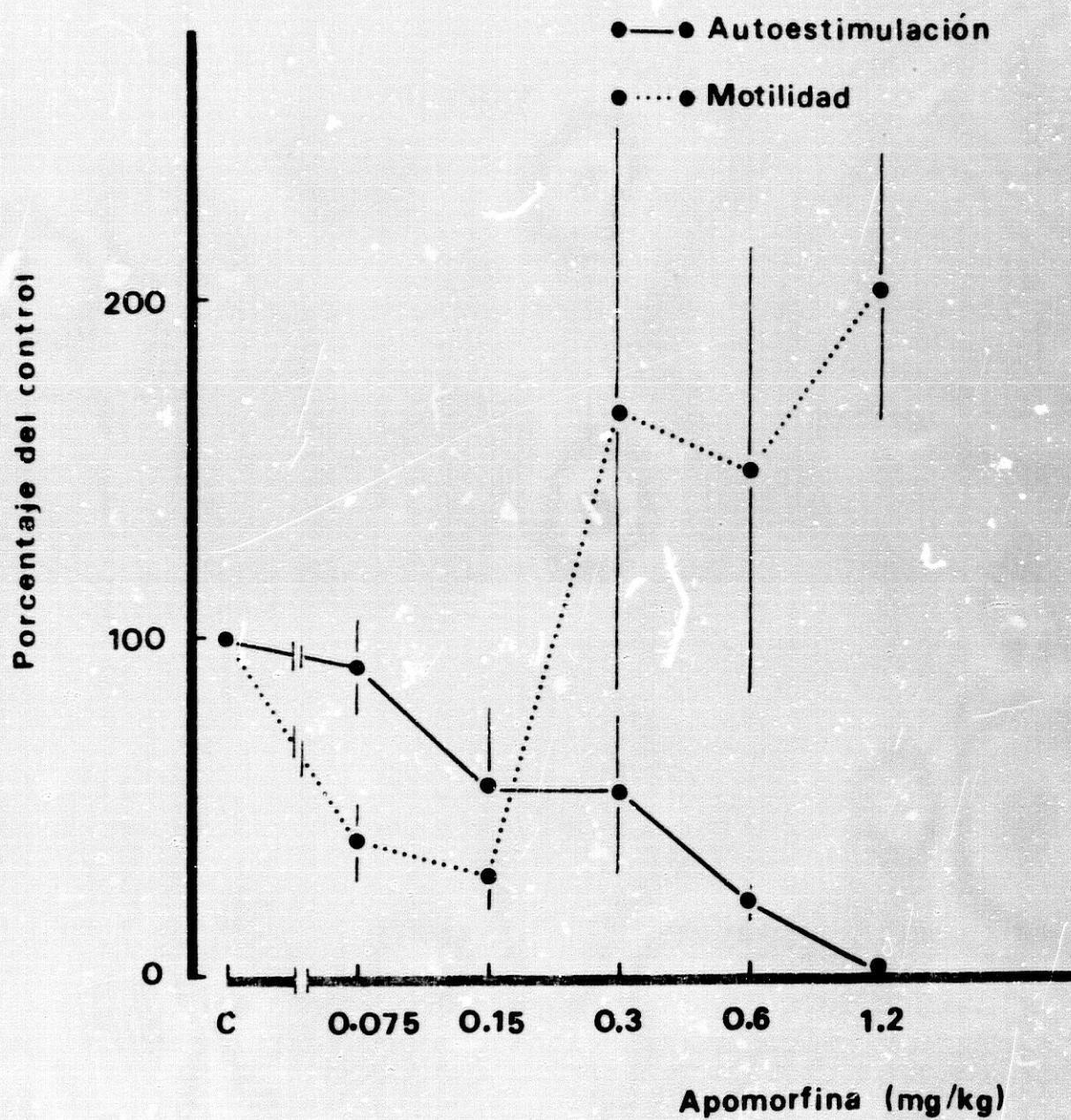
TABLA 8

Acción de la apomorfina sobre la motilidad espontánea. X = me-
dia del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la me-
dia. Entre paréntesis número de animales empleados. P = signi-
ficación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 11

Curva dosis-respuesta de los efectos de la apomorfina sobre la motilidad espontánea en un grupo de 4 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 8.



GRAFICA 12

Representación en tantos por cien de los datos recogidos en las tablas 7 y 8.

EXPERIMENTO 6

Efectos de la bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial y sobre la motilidad espontánea de la rata.

La gráfica 13 representa los efectos de la bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación. En ella puede observarse como en ninguna de las dosis utilizadas, la bromocriptina produjo modificación estadísticamente significativa en la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Estos resultados se exponen en la tabla nº 9.

En la gráfica 14, puede observarse como la bromocriptina produjo un descenso estadísticamente significativo de la motilidad espontánea, en todas las dosis utilizadas ($p < 0.05$). Estos resultados se expresan en la tabla nº 10.

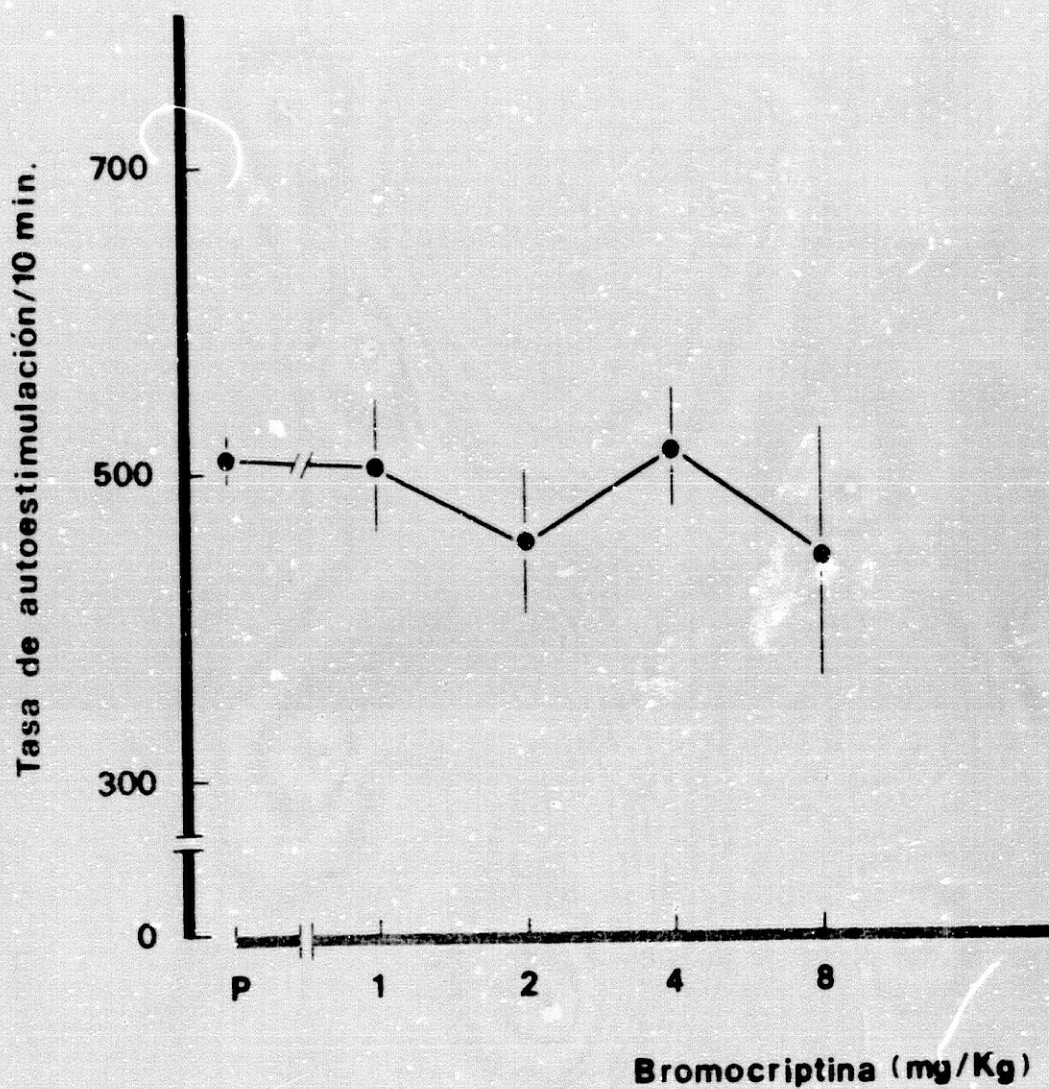
Los efectos diferenciales de la bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación y motilidad espontánea se representan en la gráfica 15. En ella se expresan en tantos por cien los resultados expuestos en las tablas 9 y 10.

AUTOESTIMULACION

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	509.8	37.4	✓
Bromocriptina 1 mg/kg	506.0	43.1 (6)	n.s.
Bromocriptina 2 mg/kg	455.8	47.4 (6)	n.s.
Bromocriptina 4 mg/kg	517.8	39.3 (6)	n.s.
Bromocriptina 8 mg/kg	446.6	82.3 (6)	n.s.

TABLA 9

Acción de la bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación
X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de
la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P =
significación estadística. n.s. = diferencias no significati
vas.



GRAFICA 13

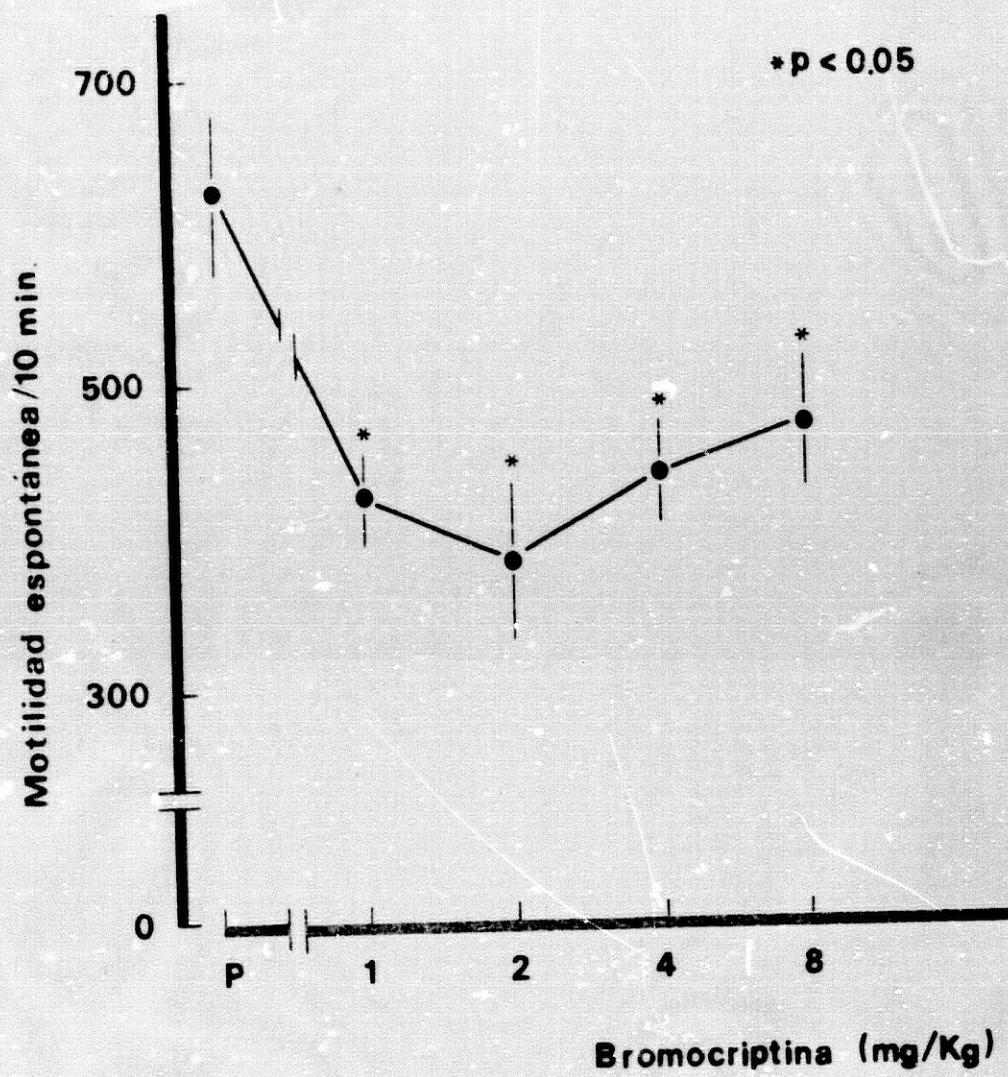
Curva dosis-respuesta de los efectos de la bromocriptina sobre la tasa de autoestimulación en un grupo de 6 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 9.

MOTILIDAD

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>	<u>P</u>
CONTROL	626.8	53.3 (6)	
Bromocriptina 1 mg/kg	425.8	29.9 (6)	0.05
Bromocriptina 2 mg/kg	382.6	49.4 (6)	0.05
Bromocriptina 4 mg/kg	440.5	36.7 (6)	0.05
Bromocriptina 8 mg/kg	473.8	41.1 (6)	0.05

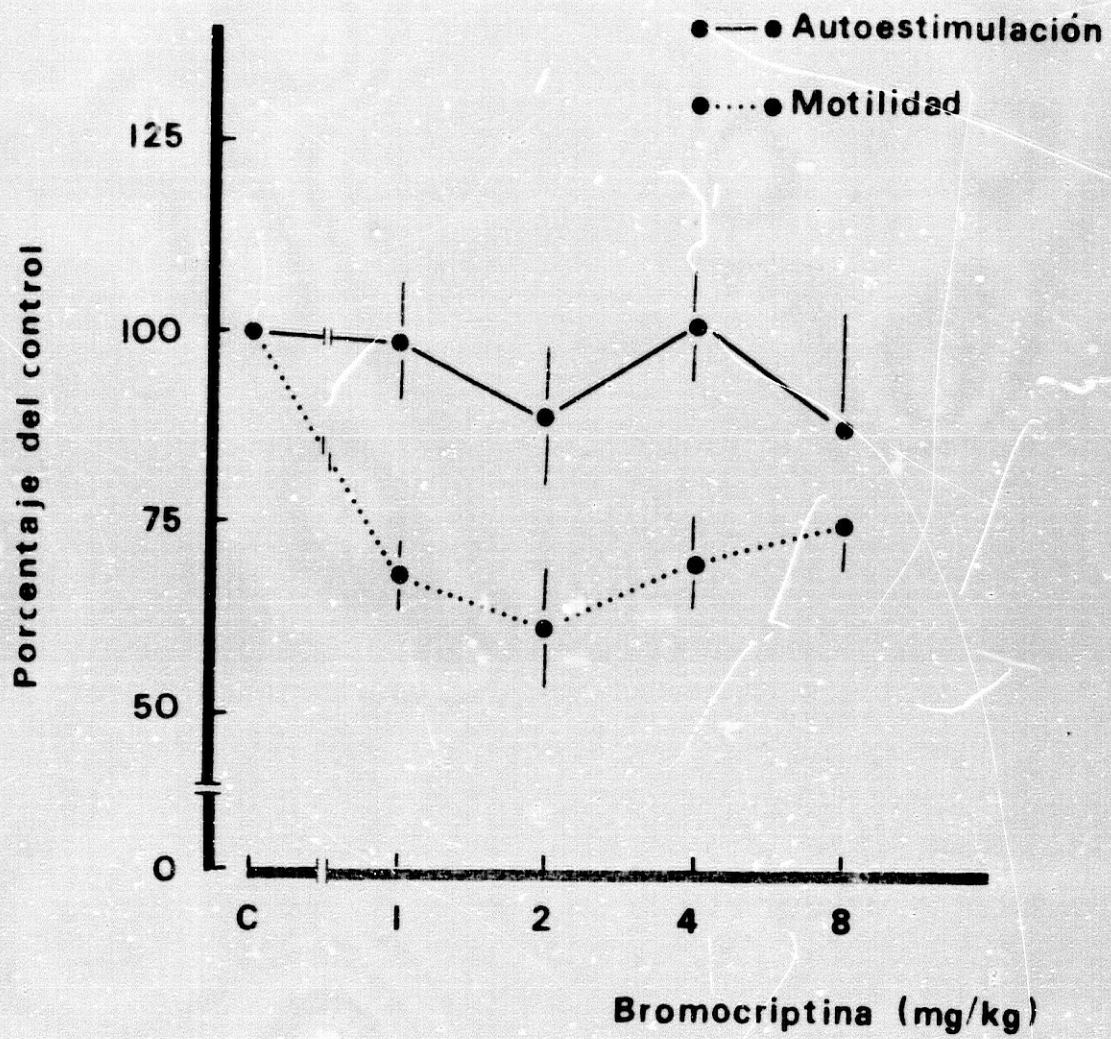
TABLA 10

Acción de la bromocriptina sobre la motilidad espontánea. X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística.



GRAFICA 14

Curva dosis-respuesta de los efectos de la bromocriptina sobre la motilidad espontánea de un grupo de 6 ratas. Re presentación de los datos recogidos en la tabla 10.



GRAFICA 15

Representación en tantos por cien de los datos recogidos en las tablas 9 y 10.

EXPERIMENTO 7

Efectos del lergotrilé sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial y sobre la motilidad espontánea de la rata.

La gráfica 16, muestra como el lergotrilé no produjo modificación estadísticamente significativa de la tasa de autoestimulación de los animales a las dosis utilizadas. Estos resultados se expresan en la tabla 11.

En la gráfica 17, puede observarse que en todas las dosis utilizadas, el lergotrilé causó una inhibición de la motilidad que fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Estos resultados se exponen en la tabla nº 12.

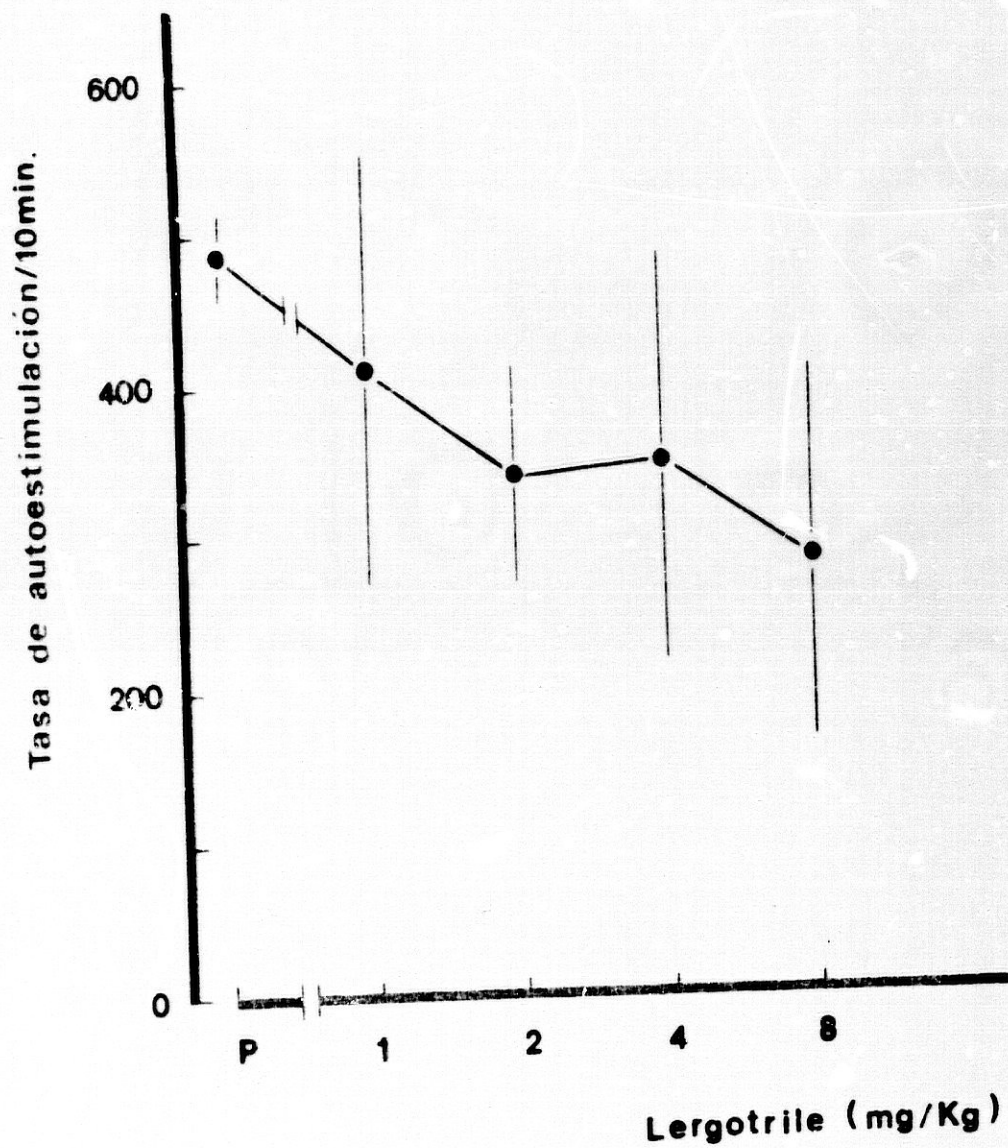
Los efectos diferenciales del lergotrilé sobre la tasa de autoestimulación y motilidad espontánea de los animales, pueden observarse en la gráfica nº 18. En ella se expresan en tantos por cien los resultados expuestos en las tablas 11 y 12.

AUTOESTIMULACION

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>		<u>P</u>
CONTROL	487.2	26.6 (4)		n.s.
Lergotrile 1 mg/kg	410.7	141.0 (4)		n.s.
Lergotrile 2 mg/kg	339.7	69.4 (4)		n.s.
Lergotrile 4 mg/kg	352.0	135.5 (4)		n.s.
Lergotrile 8 mg/kg	283.2	120.1 (4)		n.s.

TABLA 11

Acción del lergotrile sobre la tasa de autoestimulación. X = media del grupo de animales. S.E.M. = error estándar de la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística. n.s. = diferencias no significativas.



GRAFICA 16

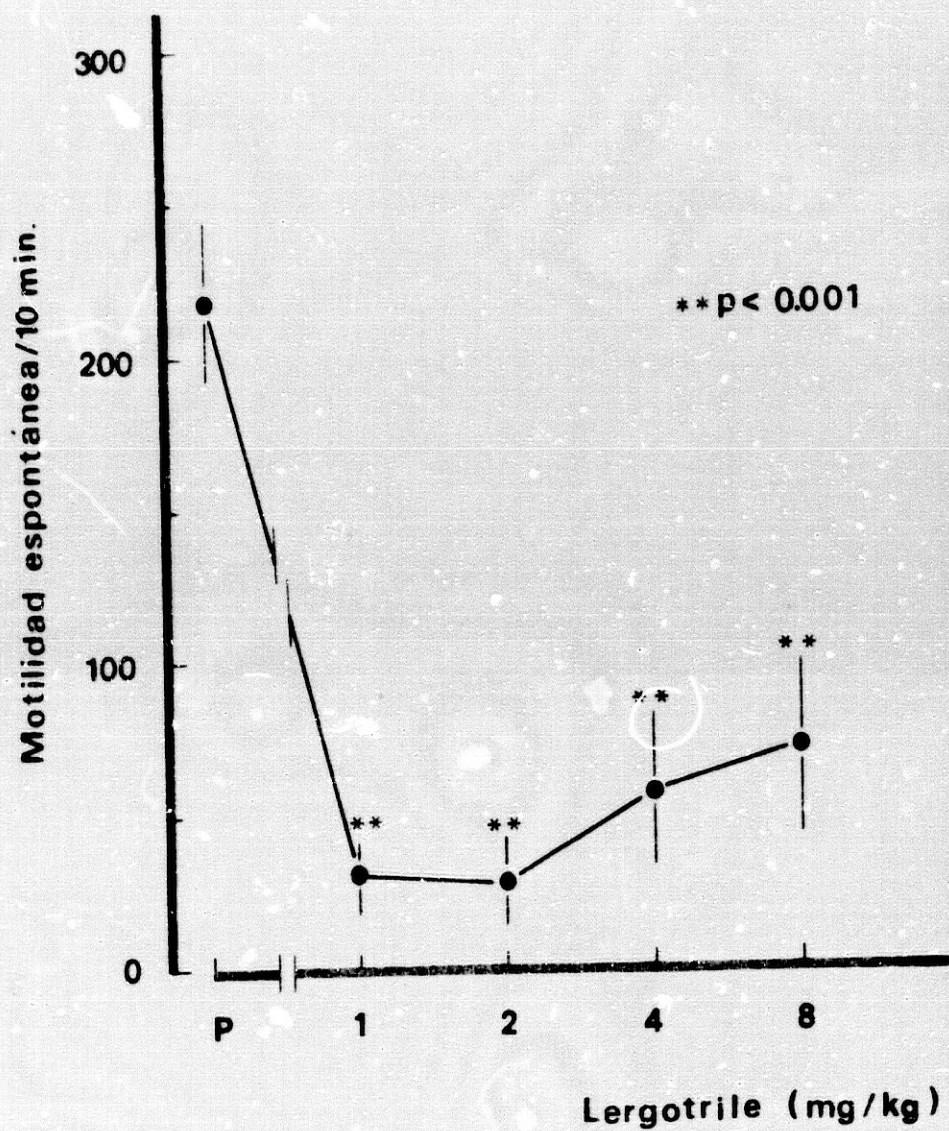
Curva dosis-respuesta de los efectos del lergotriple sobre la tasa de autoestimulación en un grupo de 4 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 11.

MOTILIDAD

	<u>X</u>	<u>S.E.M.</u>		<u>P</u>
CONTROL	218.8	25.8 (4)		
Lergotrile 1 mg/kg	30.0	11.6 (4)		0.001
Lergotrile 2 mg/kg	27.5	15.6 (4)		0.001
Lergotrile 4 mg/kg	57.0	26.4 (4)		0.001
Lergotrile 8 mg/kg	72.2	28.8 (4)		0.001

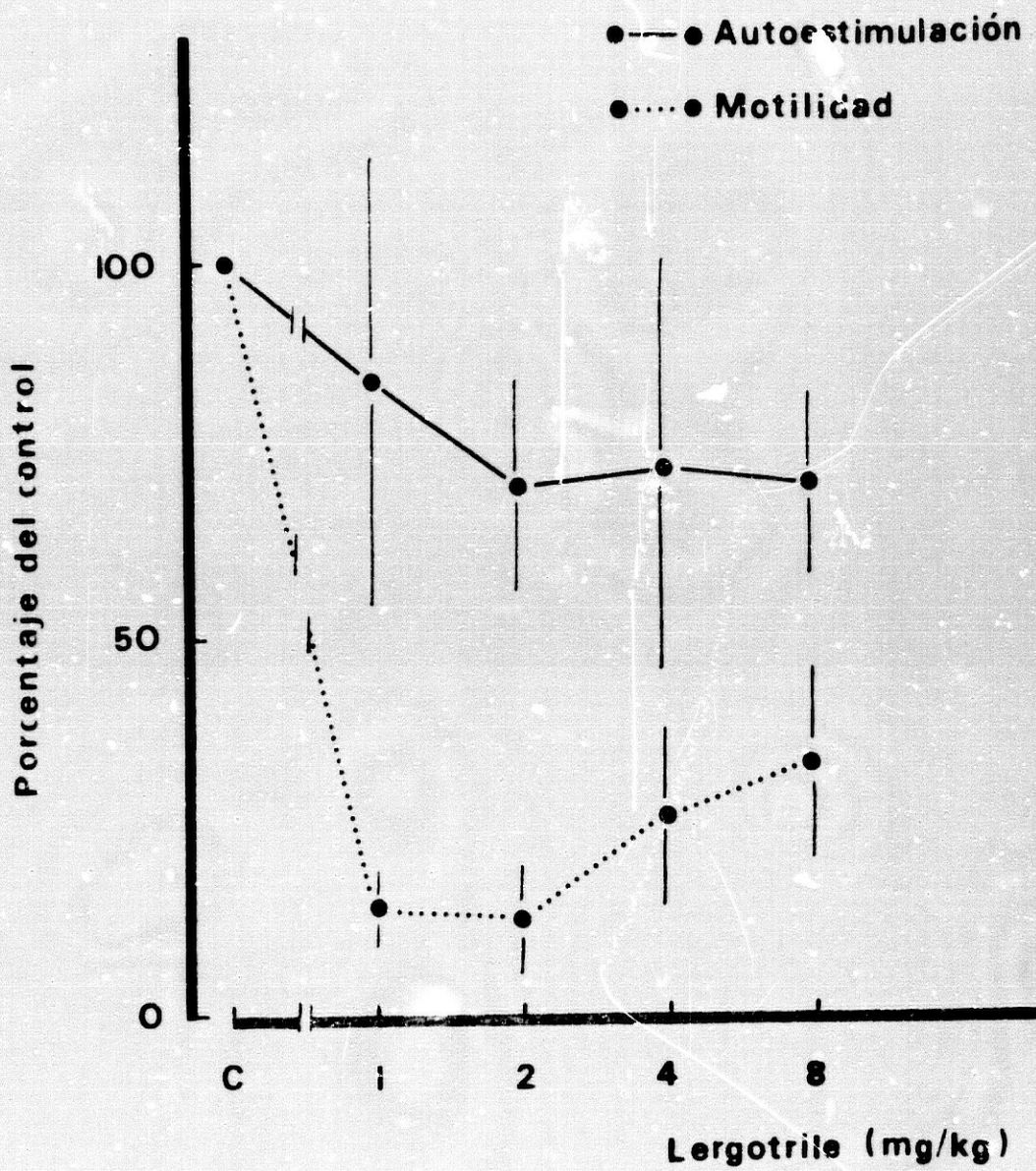
TABLA 12

Acción del lergotrile sobre la motilidad espontánea. X = media del grupo de animales. S. E. M. = error estándar de la media. Entre paréntesis número de animales empleados. P = significación estadística.



GRAFICA 17

Curva dosis-respuesta de los efectos del lergotriple sobre la motilidad espontánea en un grupo de 4 ratas. Representación de los datos recogidos en la tabla 12.

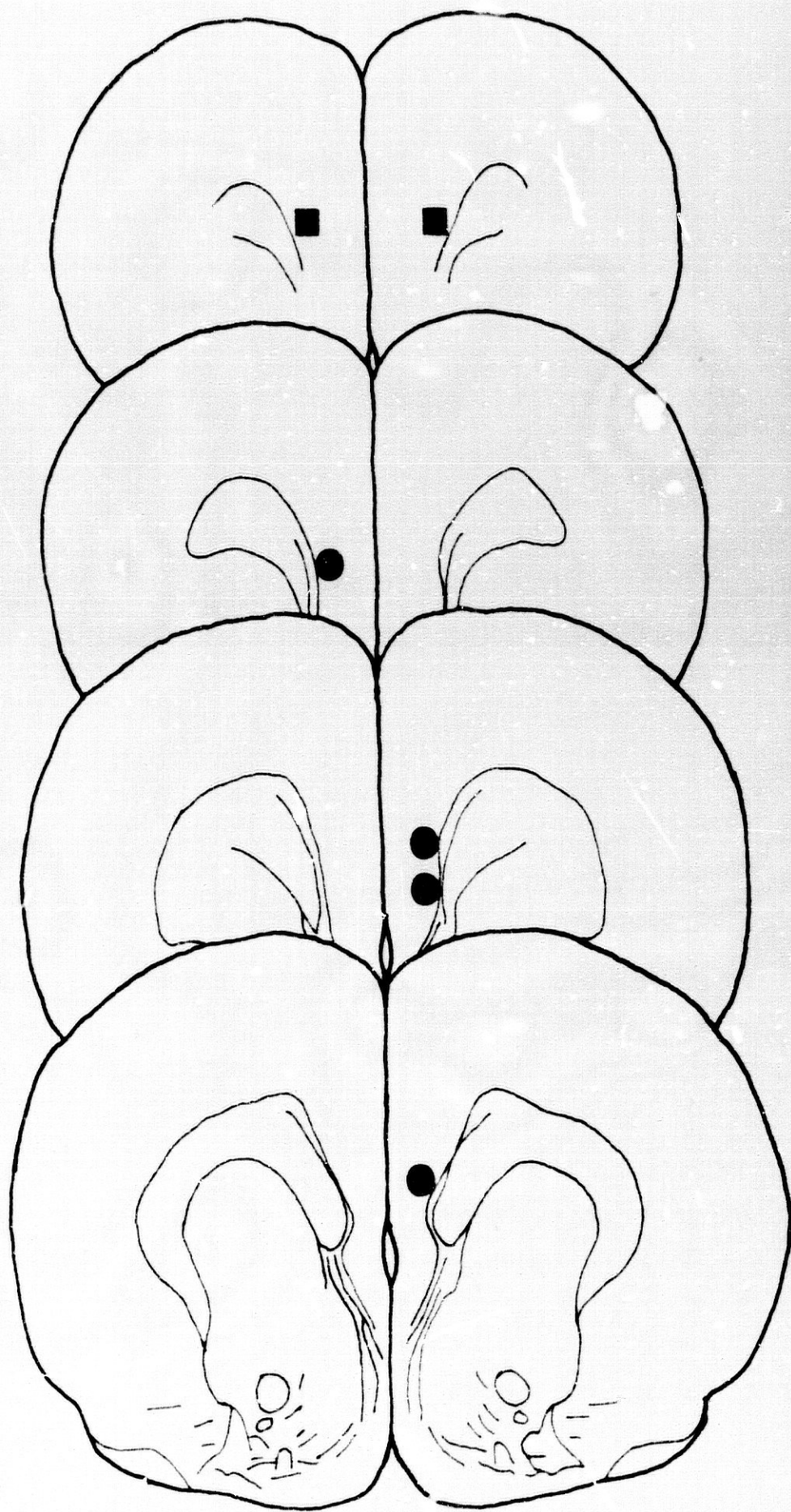


GRAFICA 13

Representación en tantos por cien de los datos recogidos en las tablas 11 y 12.

FIGURA 10

Representación de los planos histológicos en los que se han localizado los extremos de las cánulas (■) y electrodos (●) utilizados en los experimentos de esta Tesina. Los números: 10500, 10300, 9820 y 9650 indican la distancia en micras del corte a la línea interauricular. Las figuras han sido extraídas del atlas estereotáxico de König y Klippel (1967).

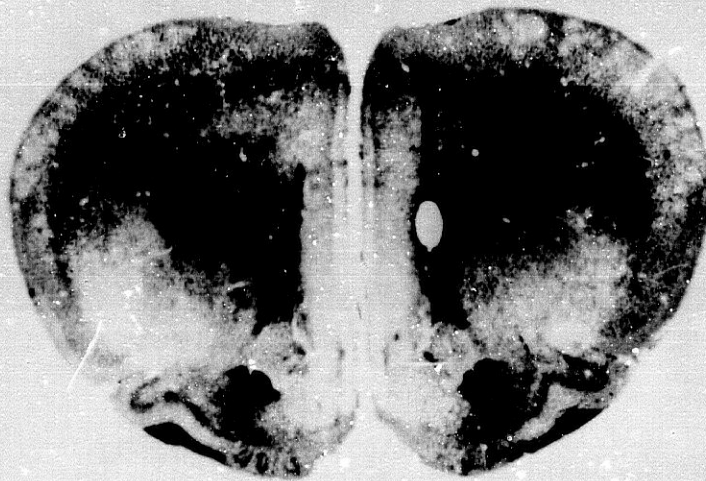


10500 μ

10300 μ

9820 μ

9650 μ



FOTOGRAFIA 5

Ejemplo de una preparación histológica en la que se puede observar el trayecto de los electrodos para autoestimulación implantados bilateralmente en la corteza prefrontal medial de la rata.

DISCUSSION

A) INTRODUCCION

Existen evidencias sólidas que sugieren la participación de la dopamina en el sustrato neuroquímico de la conducta de autoestimulación intracraneal en la corteza prefrontal de la rata (Mora, 1978; Clavier, 1979).

Recientemente, ha sido puesto en claro la existencia de dos tipos diferentes de receptores dopaminérgicos, D_1 y D_2 , en el sistema nervioso central (Kebabian y Calne, 1979; Iversen, 1980). La característica principal de los receptores D_1 frente a los D_2 es el hecho de que la acción de la dopamina sobre ellos está mediada por un adenilato - ciclasa (Kebabian y Calne, 1979). (para mayor detalle ver apartado D-1, sección 4 de esta Tesina).

En la mayoría de las áreas cerebrales estudiadas, entre ellas el estriado, tubérculo olfatorio, sustancia negra, corteza somatosensorial, corteza entorrinal ventral y dorsal, hipocampo e hipotálamo, ha sido demostrada la existencia de ambos tipos de receptores dopaminérgicos, si bien, la proporción entre ellos varía de unas áreas a otras (Iversen, 1980).

En la corteza prefrontal de la rata, Iversen (1980) ha referido la existencia de un claro predominio de los receptores D_1 sobre los D_2 . Por otra parte y con anterioridad fue referido el que en el lóbulo frontal de la rata, las concentraciones más altas de receptores dopaminérgicos ligados a la adenil-ciclasa (D_1), se hallan en la corteza prefrontal medial y sulcal (Tassin et al. 1976).

En vista de los argumentos precedentes, el propósito de esta Tesina fue el realizar un estudio neurofarmacológico conducente a caracterizar la posible participación de los receptores dopaminérgicos D_1 , D_2 o ambos, en la mediación de la conducta de autoestimulación cerebral en la corteza prefrontal medial de la rata.

Para llevar a cabo este estudio, se comenzó con el empleo de los fármacos que, en base a la literatura, son considerados fundamentalmente como antagonistas de los receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 . El objeto fue el de conocer los efectos de la interrupción de la transmisión dopaminérgica sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata. Posteriormente se emplearon los fármacos considerados principalmente como agonistas de los receptores D_1 y D_2 .

De todas las drogas empleadas, a excepción del pimozide inyectado intracerebralmente, se estudió su acción sobre dos parámetros: tasa de autoestimulación y motilidad espontánea. Este último, nos sirvió como reflejo del estado de sedación o incapacidad motora de los animales.

A continuación pasamos a estudiar y discutir los efectos de cada grupo de fármacos sobre los parámetros antes señalados (ver sección RESULTADOS).

B) SOBRE LOS RECEPTORES D₁ Y LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA .

Un problema con el que nos enfrentamos a la hora de proyectar los experimentos conducentes a dilucidar la participación de los receptores D₁ en la autoestimulación cerebral, es la no existencia hasta la fecha, de fármacos agonistas y antagonistas selectivos de los receptores D₁. Todos los fármacos dopaminérgicos que actúan sobre los receptores D₁, tienen efectos también sobre los receptores D₂ (Iversen, 1980).

En el presente estudio, han sido utilizados dos tipos de antagonistas de los receptores dopaminérgicos D₁ (aunque también antagonizan los D₂), estos son: el spiroperidol (perteneciente al grupo de las butirofenonas) y el pimozide (un derivado de la difenilbutilamina). Como agonista dopaminérgico D₁ se ha utilizado la apomorfina. De igual manera que los antagonistas dopaminérgicos antes mencionados, la apomorfina actúa también como agonista de los receptores D₂ (Kebabian y Calne, 1979; Iversen, 1980).

De estos fármacos, existe una amplia bibliografía en relación con sus efectos sobre la autoestimulación en diversas áreas cerebrales de la rata y el primate (Mora et al, 1975; Wauquier, - 1978; Phillips et al, 1979).

El primer experimento consistió en la administración por vía intraperitoneal del spiroperidol. El rango de dosis utilizado, así como la pauta de trabajo seguida, estuvo en función de trabajos existentes en la literatura (Mora et al, 1980). En este expe-

rimento, el spiroperidol produjo una inhibición dosis-relacionada tanto de la tasa de autoestimulación (gráfica 2), como de la motilidad espontánea de los animales (gráfica 3). En ambos casos la inhibición fue estadísticamente significativa a las dosis mayores utilizadas: 0.064 y 0.128 mg/kg.

Estos resultados están de acuerdo con trabajos precedentes (Mora et al, 1975; Phillips et al, 1979), en los que el spiroperidol y otros bloqueantes dopaminérgicos similares tales como el haloperidol y pimozide, produjeron una inhibición de la tasa de autoestimulación de diferentes áreas cerebrales del mono rhesus.

En la actualidad, se conoce la participación de núcleos y vías dopaminérgicas centrales (núcleo caudado-putamen y vía nigroestriatal), en la regulación de la conducta motora (Bernheimer, 1973). La administración sistémica de fármacos antagonistas de los receptores dopaminérgicos conlleva el que estos agentes bloqueen todos los receptores dopaminérgicos centralmente de las vías y sistemas envueltos. Bajo este punto de vista, la inhibición dosis-relacionada de la conducta de autoestimulación causada por la administración intraperitoneal de drogas que selectivamente bloquean los receptores dopaminérgicos (el spiroperidol en nuestros experimentos), puede ser explicada como un reflejo del impedimento motor de los animales, más que de la acción específica de estos fármacos sobre la autoestimulación. En este sentido, ha sido referido por Wauquier et al, 1975, que la inhibición de la tasa de autoestimulación del hipotálamo

lateral causada por bloqueantes específicos de los receptores dopaminérgicos, es revertida por la acción central anticolinérgica del dexetimide. Es bien conocido el hecho de que una disrupción del balance acetilcolina/dopamina a nivel del estriado, produce una inhibición motora que puede ser corregida reajustando farmacológicamente los niveles de estos dos neurotransmisores (Wauquier, 1976; Berheimer, 1973). En este sentido, los resultados expresados en el experimento de Wauquier et al, anteriormente expuestos, parecen ser pues, debidos a una disfunción motora de los animales.

En nuestro laboratorio (Mora et al., 1980), se investigó este problema en relación con la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata. El objeto fue ver si el dexetimide un anticolinérgico de acción central (Janssen Pharmaceutica) era capaz de revertir la inhibición producida por el spiroperidol sobre la conducta motora de los animales. A la vez, estudiar si este efecto era seguido o no, de una recuperación de la autoestimulación en los mismos animales.

Inicialmente, podría esperarse que si la dopamina está jugando un papel inhibitorio en esta área del cerebro, como ha sido sugerido por Mora, (1978), el dexetimide podría no ser capaz de restablecer la autoestimulación, aunque sí, la inhibición motora de los mismos animales. Efectivamente, en nuestro experimento el dexetimide revirtió la inhibición dosis-relacionada de la motilidad causada por el spiroperidol, pero fue incapaz de revertir la inhibición causada en la autoestimulación, de la corteza (Mora, Alba, Sanguinetti, Rodríguez y Vives, 1980). Ver fig: 11 y 12.

FIGURA 11

Efectos de inyecciones intraperitoneales de spiroperidol y spiroperidol mas dexetimide sobre la motilidad espontánea en un grupo diferente de 6 ratas. P = placebo. D = Dexetimide solo.

FIGURA 12

Curvas dosis-respuesta de los efectos de inyecciones intraperitoneales de spiroperidol y spiroperidol mas dexetimide sobre la autoestimulación de la corteza prefrontal medial en un grupo de 8 ratas. La estimulación está expresada en porcentajes respecto del placebo.

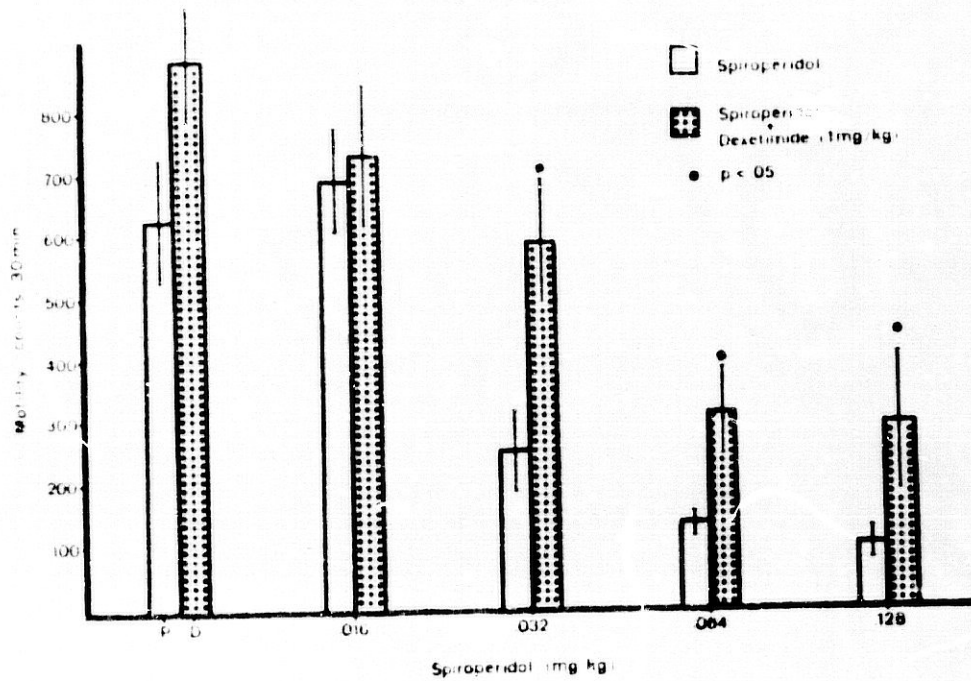


FIGURA 11

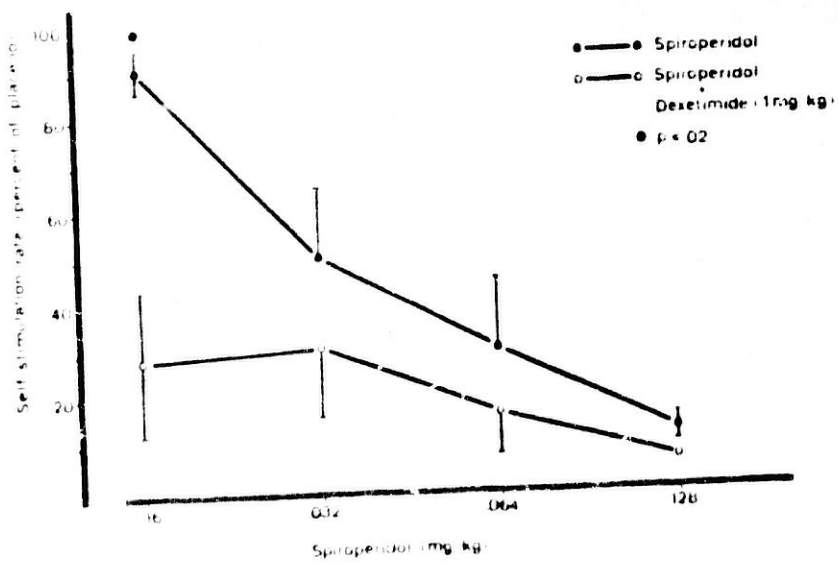


FIGURA 12

(Tomado de Mora, Alba, Sanguinetti, Rodríguez y Vives, 1980.)

Estos resultados, contrarios a los reportados por Wauquier et al. (1975) en el hipotálamo lateral, anteriormente comentados, sugieren que la inhibición causada por el spiroperidol sobre la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, podría ser específica y no debida a un impedimento motor de los animales.

No obstante, y para confirmar esta hipótesis, se diseñó el experimento 2 de esta Tesina. En dicho experimento, el pimozide, un antagonista específico de los receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 , fue inyectado intracerebralmente en la corteza prefrontal medial de la rata. La inyección fue unilateral y se registró la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial inyectada, así como de la contralateral, que fue usada como control.

La inyección intracerebral del pimozide, permite el que este fármaco actúe selectivamente en el área de localización del electrodo, sin afectar al resto de los sistemas dopaminérgicos cerebrales, y en especial a los que regulan la conducta motora cuales son: el caudado-putamen y la vía nigro-estriatal. De esta manera, se obvia el problema planteado por la administración sistémica de los antagonistas dopaminérgicos, anteriormente discutida.

De confirmarse la hipótesis de que la acción de los antagonistas dopaminérgicos D_1 sobre la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata es específica cabría esperar que el pimozide alterara la tasa de autoestimulación de la corteza -

prefrontal medial inyectada y no la de la contralateral. Efectivamente, como puede observarse en la gráfica 5, el pimozide causó una inhibición dosis-relacionada de la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial inyectada, mientras que esto no sucedió en la corteza prefrontal medial contralateral. El ácido tartárico, que fue usado como solvente del pimozide, no afectó significativamente la tasa de autoestimulación del área inyectada ni de la contralateral.

En resumen, los dos últimos experimentos presentados, sugieren que la inhibición de la tasa de autoestimulación producida por los bloqueantes de los receptores dopaminérgicos (D_1) está causada específicamente por el bloqueo de la transmisión dopaminérgica, que a su vez es parte del sustrato neuroquímico de los procesos de recompensa en la corteza prefrontal medial de la rata (Mora 1978).

Para completar nuestro estudio sobre los receptores D_1 , se diseñó el experimento 5 de esta Tesis. En él, se utilizó un agonista de los receptores D_1 : la apomorfina. Como ya se ha mencionado, este fármaco posee efectos sobre los receptores D_2 .

En este experimento, la apomorfina, fue administrada por vía subcutánea. El rango de dosis y la pauta de trabajo se eligieron en función de la literatura existente (Mora et al, 1976 a). En nuestra experiencia, la apomorfina causó una inhibición dosis-relacionada de la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata (gráfica 10). Esta inhibición fue estadísticamente significativa a las dosis de 0.15, 0.3, 0.6 y

1.2 mg/kg. Estos resultados corroboran los encontrados por Mora et al. (1976 a) en la corteza prefrontal medial y sulcal de la rata. Respecto a la motilidad espontánea, la apomorfina produjo efectos bifásicos (gráfica 11). A las dosis menores utilizadas: 0.075 y 0.15 mg/kg, produjo una inhibición estadísticamente significativa de la motilidad, mientras que a las dosis 0.3, 0.6 y 1.2 mg/kg, produjo un incremento de la misma, que fue estadísticamente significativo a la dosis de 1.2 mg/kg. Este aumento de los valores de la motilidad, fue posiblemente debido a la estereotipia causada por las dosis más altas de apomorfina. Similares resultados han sido referidos por Fuxe et al. (1978). Estos autores consideran que la reducción en la motilidad observada con las dosis más bajas de apomorfina podría ser interpretado como una activación de los autorreceptores dopaminérgicos o de los receptores dopaminérgicos postsinápticos situados en la sustancia negra. Igualmente, sugieren que la conducta estereotipada observada en los animales con las dosis mayores de apomorfina - pudiera ser debida principalmente a la activación de receptores postsinápticos situados en el núcleo accumbens. (Fuxe et al. 1978).

Los efectos inhibitorios de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata, producidos por la apomorfina, parecen ser específicos y debidos al efecto de la droga sobre los sustratos neuroquímicos de la autoestimulación en esta región del cerebro, en base a los trabajos paralelos realizados -

por Mora et al., (1976 a). Estos autores han referido una inhibición de la autoestimulación de la corteza prefrontal medial y sulcal de la rata producida por la apomorfina, junto con una facilitación o no afectación de la autoestimulación del caudado-putamen, otra área dopaminérgica, en el mismo experimento y animales. Además esto se ve reforzado conclusivamente por los experimentos de Phillips et al. (1979) realizados en el primate. En estos experimentos, igualmente se obtuvo una inhibición dosis-relacionada de la tasa de autoestimulación de la corteza orbito-frontal por la apomorfina, así como una facilitación de la autoestimulación del caudado-putamen en los mismos animales y bajo los efectos de la misma droga.

De todo lo expuesto anteriormente, sobre los efectos de -- agonistas y antagonistas dopaminérgicos D_1 en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, resalta el hecho aparentemente paradójico, de que ambos tipos de fármacos posean efectos inhibitorios sobre la misma. Sobre la base del modelo propuesto por Mora (1978). Esto podría interpretarse de la siguiente manera:

La conducta de autoestimulación cerebral, es producida por la liberación de un neurotransmisor (en este caso la dopamina - endógena) contingentemente a cada apretada de la palanca realizada por el animal. De ser esto así, la acción de los agonistas dopaminérgicos radicaría en una estimulación continua, no contingente de los receptores postsinápticos dopaminérgicos. De es

to se deduce que la conducta operacional quedaría interrumpida al perderse la contingencia. En otras palabras, la recompensa obtenida por la rata sería en este caso continua y por lo tanto no habría necesidad, por parte del animal, de realizar ningún tipo de trabajo para su obtención. En el caso de los antagonistas, al bloquear los receptores dopaminérgicos, la conducta operacional realizada no es seguida de recompensa, lo que llevaría a la extinción de esta conducta.

En resumen, los efectos inhibitorios producidos por los agonistas como antagonistas dopaminérgicos, expuestos en esta sección, sugieren que su influencia sobre la autoestimulación es debida a una interacción con los sustratos neuroquímicos -- subyacentes al fenómeno de autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata. Inicialmente y debido a la no especificidad de estos fármacos respecto de los receptores D_1 y D_2 no se podría afirmar si los resultados obtenidos son debidos a la mediación específica de uno u otro de estos tipos de receptores. No obstante y en función de los resultados que se expondrán en el siguiente apartado de este capítulo, es posible sugerir que los efectos relatados son mediados fundamentalmente por los receptores dopaminérgicos D_1 , ligados a la adenil-ci-clasa.

C) SOBRE LOS RECEPTORES D_2 Y LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA.

A diferencia de los receptores D_1 , hoy se conoce la existencia de antagonistas dopaminérgicos (sulpiride y metoclopramida) que parecen actuar selectivamente a nivel de los receptores D_2 (Iversen, 1980). Así, por ejemplo, ha sido descrita la capacidad del sulpiride de desplazar de sus sitios de fijación al 3H -Spiroperone (Jenner et al. 1978) y al 3H -Haloperidol (Garau et al. 1978). Por otra parte, el sulpiride no es capaz de desplazar al 3H -cisflupentixol, sustancia que se fija casi selectivamente en los receptores D_1 (Cross et al. 1980). De igual forma el sulpiride no antagoniza la estimulación del adenilato-ciclasa causada por la dopamina, hecho característico de los receptores D_1 (Jenner et al. 1978; Cross et al. 1980). Todo lo anterior sugiere fuertemente que el sulpiride es un antagonista selectivo de los receptores dopaminérgicos D_2 .

Respecto a los fármacos agonistas de los receptores D_2 , se conoce que los derivados ergóticos: bromocriptina, lergotriple y lisuride, poseen acciones agonistas D_2 (Kebabian y Calne, 1978; Iversen, 1980). En este sentido, ha sido referido por Kebabian et al (1979) que esta acción agonista D_2 es ejercida por estas sustancias cuando se hallan en concentraciones nanomolares, en cambio se comportan como débiles agonistas D_1 cuando lo están en concentraciones micromolares. No obstante, los deriva-

dos ergóticos similares a la bromocriptina, parecen representar selectivos agonistas de los receptores dopaminérgicos D_2 (Iversen, 1980).

De todo lo anterior se deduce, que el sulpiride antagoniza selectivamente los receptores D_2 , en tanto que la bromocriptina y derivados ergóticos similares son capaces de comportarse como selectivos agonistas de este tipo de receptores.

En función de esto, fue diseñado el segundo bloque de experimentos de esta Tesina. En estos experimentos, se ha utilizado el sulpiride como antagonista específico como antagonista D_2 y la bromocriptina y lergotril como agonistas de los receptores D_2 .

En primer lugar se estudiaron los efectos del sulpiride administrado intraperitonealmente, con un rango de dosis y una pauta de trabajo basada en previos trabajos (Tagliamonte et al. 1974; Hofmann et al. 1978). El sulpiride no alteró significativamente la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata a excepción de la dosis más alta empleada de 40 mg/kg. (ver gráfica 6). En cuanto a la motilidad espontánea se refiere, el sulpiride produjo una inhibición significativa de la motilidad a las dosis mayores empleadas: 20 y 40 mg/kg. el resto de las dosis utilizadas no modificaron significativamente este parámetro.

De estos resultados se deduce que el sulpiride no afecta a la conducta de autoestimulación de la corteza prefrontal medial

de la rata, salvo a la dosis más alta empleada. No obstante y debido a que a esa misma dosis este fármaco produjo una inhibición estadísticamente de la motilidad espontánea de los animales, la inhibición en la autoestimulación, podría explicarse como un reflejo del impedimento motor causado por el sulpiride.

Con el fin de corroborar esta hipótesis, se diseñó el experimento 4 de esta Tesina. En él, fue inyectado el sulpiride intracerebralmente en la corteza prefrontal medial de la rata. La inyección fue unilateral y se registró la tasa de autoestimulación del área inyectada así como la de la corteza prefrontal medial contralateral que sirvió de control. (este método experimental ha sido discutido en el apartado B de este capítulo).

Los resultados de este experimento se muestran en la gráfica 9. Como puede observarse, ninguna de las dosis de sulpiride utilizadas causaron alteración significativa de la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial inyectada, así como tampoco de la contralateral, que sirvió como control.

Estos resultados corroboran la interpretación dada a los experimentos en los que el sulpiride fue inyectado por vía intraperitoneal y por tanto demuestran que no altera la autoestimulación de la corteza prefrontal medial en la rata.

De lo anterior es posible sugerir que el bloqueo selectivo de los receptores dopaminérgicos D_2 no influye sobre la conducta de autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata.

Para completar el estudio sobre la participación de los receptores dopaminérgicos D_2 en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, se llevaron a cabo los experimentos 6 y 7 de esta Tesina. En ellos se administraron subcutáneamente los agonistas de los receptores D_2 : bromocriptina y lergotriple. El rango de dosis utilizado, así como la pauta de trabajo seguida fueron elegidas en función de la literatura (Silbergeld et al. 1976 ; Fuxe et al. 1978). La bromocriptina, no modificó significativamente la tasa de autoestimulación en ninguna de las dosis utilizadas (gráfica 13). Por el contrario la bromocriptina causó una inhibición estadísticamente significativa en todas las dosis utilizadas de la motilidad espontánea de los mismos animales y durante los mismos experimentos (gráfica 14). Estos resultados corroboran los obtenidos por Fuxe et al. (1978), en los que se refiere una marcada inhibición de la motilidad espontánea de las ratas tras aproximadamente el mismo tiempo de la inyección sistémica de bromocriptina. Similar a los resultados descritos para la bromocriptina, fueron los obtenidos con lergotriple. Es decir, la administración sistémica de este fármaco no produjo modificación significativa de la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial (gráfica 16). Similar a lo obtenido con la bromocriptina, el lergotriple causó una inhibición significativa de la motilidad espontánea de los animales en todas las dosis utilizadas (gráfica 17). Similares resultados han sido referidos igualmente por Fuxe et al. (1978).

Estos efectos inhibitorios de los derivados ergóticos (bromocriptina y lergotril) sobre la conducta motora, han sido interpretados como debidos a la activación preferencial de los autorreceptores dopaminérgicos, localizados sobre las terminales y dendritas de los sistemas dopaminérgicos (Carlsson, 1975).

De los resultados presentados en esta sección sobre la participación de los receptores D_2 en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, es posible sugerir el que este tipo de receptor no participa en la neurotransmisión dopaminérgica ya sugerida como sustrato neuroquímico de la autoestimulación en esta área del cerebro.

D) SUMARIO.

Los fármacos que selectivamente antagonizan los receptores dopaminérgicos D_2 administrados sistémica e intracerebralmente, no alteran la tasa de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata. De igual forma, los agonistas dopaminérgicos considerados presumiblemente como agonistas selectivos de los receptores D_2 , inyectados sistémicamente, tampoco alteran esta conducta (ver apartado C de esta DISCUSION).

Por su parte, los agonistas y antagonistas dopaminérgicos capaces de activar o bloquear los receptores D_1 y D_2 , ac-

túan sobre los sustratos neuroquímicos de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata. (ver apartado B de esta DISCUSION).

El hecho de que los agonistas y antagonistas que selectivamente actúan a nivel de los receptores D_2 no ejerzan acción sobre la autoestimulación de la corteza prefrontal medial y - de que por el contrario los agonistas y antagonistas que indistintamente actúan sobre los receptores D_1 y D_2 produzcan una inhibición de esta conducta en la misma área cerebral, sugiere que esta acción es debida fundamentalmente a la neurotransmisión mediada por los receptores D_1 .

Esta hipótesis, se ve apoyada por la evidencia neuroquímica de que la corteza prefrontal presenta una alta densidad de receptores dopaminérgicos D_1 , mientras que la presencia de receptores D_2 es escasamente detectable (Iversen, 1980), así como por el hecho de que la mayor proporción de receptores ligados a la adenil-ciclase (D_1) del polo frontal de la rata, se localiza en la corteza prefrontal medial y sulcal. En la primera de ellas, es donde han sido llevados a cabo todos los experimentos de esta Tesina.

En resumen, los resultados expuestos en esta Tesina sugieren que el sustrato dopaminérgico que media la conducta de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, implica fundamentalmente a los receptores dopaminérgicos D_1 .

CONCLUSIONES

Los resultados presentados en esta Tesina nos han permitido llegar a las siguientes conclusiones:

1ª.- El antagonista específico de los receptores dopaminérgicos D_2 sulpiride administrado por vía sistémica e intracerebral, no altera significativamente la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

2ª.- Los agonistas de los receptores D_2 bromcriptina y lergotriple administrados por vía sistémica, no modifican significativamente la autoestimulación de esta área cerebral.

3ª.- Los antagonistas dopaminérgicos de acción sobre los receptores D_1 y D_2 administrados sistémica e intracerebralmente, producen una inhibición dosis-relacionada de la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

4ª.- El agonista dopaminérgico de los receptores D_1 y D_2 apomorfiná administrada sistémicamente, produce una inhibición dosis-relacionada de la autoestimulación de esta área cerebral.

5ª.- Las conclusiones 1ª, 2ª, 3ª y 4ª; sugieren que el sustrato dopaminérgico que media la conducta de autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata, implica fundamentalmente a los receptores dopaminérgicos D_1 .

BIBLIOGRAFIA

- Berger, B., Thierry, A.M., Tassin, J.P. and Moyné, M.A. Dopamine innervation of the rat prefrontal cortex: A fluorescence histochemical study. Brain Res. 106: 133-145. 1976
- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K. and Seitelberger, F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington: Clinical, morphological and neurochemical correlations. J. Neurol. Sci. 20: 415-455, 1973.
- Boyd, E.S. and Gardner, L.C. Positive and negative reinforcement from intracranial self-stimulation in teleost. Science 136: 648. 1962
- Brady, J.V., and Conrad, D.G. Some effects of limbic system self-stimulation upon conditioned emotional behaviour. J. Comp. Physiol. Psychol. 53: 128-137. 1960
- Broekkamp, C.L. and Phillips, A.G. Facilitation of self-stimulation behavior following intracerebral microinjections of opioids into the ventral tegmental area. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 11: 269-295. 1979
- Bunney, B.S. and Aghajanian, G.K. Dopamine and norepinephrine innervated cells in the rat prefrontal cortex: Pharmacological differentiation using microiontophoretic techniques. Life Sci. 19: 1783-1792. 1976

- Carlsson, A. In: Pre-and postsynaptic receptors, edited by E. Usdin and W. Bunney, Jr. New York: Dekker, 1975 p. 49.
- Clavier, R.M. and Routtenberg, A. Brain stem self-stimulation attenuated by lesions of medial forebrain bundle but not by lesion of locus coeruleus or caudal ventral norepinephrine bundle. Brain Res. 101: 251-271. 1976 a. 1975
- Clavier, R.M., Fisiger, H.C. On the role of ascending catecholaminergic projections in intracranial self-stimulation of the substantia nigra. BRAIN Res. 131: 271-286. 1977.
- Clavier, R.M. and Garfen, C.R. Self-stimulation of the sulcal prefrontal cortex in the rat: direct evidence for ascending dopaminergic mediation. Neuroscience Letters. 12: 183-187. 1979.
- Collier, V.T., Kurtman, S. Routtenberg, A. Intracranial self-stimulation derived from entorhinal cortex. Brain Res. 137: 186-196. 1977
- Cools, A.R. and Van Rossum, J.M. Excitation-mediating and inhibition dopamine-receptors: A new concept towards a better understanding of electrophysiological, biochemical, pharmacological, functional and clinical data. Psychopharmacologia. 45: 243-254. 1976.

Cooper, R.M. and Taylor, L.H. Thalamic reticular system and central gray: self-stimulation. Science. 156: 102-103. 1967

Cooper, B.R., Black, W.C. and Polino, R.M. Decreased septal-forebrain and lateral hypothalamic reward after α -methyl-p-tyrosine. Physiol. Behav. 6: 425-429. 1971.

Cross, A.J. and Owen, F. Characteristics of 3H-cisflupentixol binding to calf brain membranes. Eur. J. Pharmacol. 29: 349-351. 1980

Crow, T.J. The relation between electrical self-stimulation sites and catecholamine containing neurones in the rat mesencephalon Experientia (Basel), 27: 662. 1971.

Crow, T.J. A map of the rat mesencephalon for electrical self-stimulation. Brain Res. 36: 265-273. 1972 a.

Crow, T.J. Catecholamine containing neurones and electrical self-stimulation. I. Review of some data. Psychol. Med. 2: 414-421 1972 b.

Dahlstrom, A. and Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurones in the central nervous system. I: demonstration of monoamine neurones in the cell bodies of brain-stem neurones. Acta Physiol. Scand. 62: (Suppl.232) 1965.

Elde, R. Hokfelt, T., Johansson, O., Terenius, L. Immunohistochemical studies using antibodies to leucine-enkephalin: -- initial observations on the nervous system of the rat. Neuroscience. 1: 349-351. 1976

Fibiger, H.C. Drugs and reinforcement mechanism. A critical review of the catecholamine theory. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 18: 37-56. 1978

Fuster, J.M. The prefrontal cortex. Anatomy, physiology and neuropharmacology of the prefrontal lobe. Raven Press, New York 1980.

Fuxe, K., Goldstein, M., Hokfelt, T., Johansson, G. and Lidbrink P. Dopaminergic involvement in hypothalamic function: Extrahypothalamic and hypothalamic control. A neuroanatomical analysis. Advanc. Neurol. 5: 405-419. 1974.

Fuxe, K., Hamberger, B., Hokfelt, O. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. Brain Res. 8: 125. 1968.

Fuxe, K., Bertil, B., Fredholm, Ogren, S.O. Agnati, L.F., Hokfelt T. and Gustafsson, J.A. Ergots drugs and central monoaminergic mechanisms: A histochemical, biochemical and behavioral analysis. Federation Proc. 37: 2181-2191, 1978.

Garau, L. Govoni, S., Stefanini, E., Trabucchi, M. and Spano, P. F. Dopamine receptors: Pharmacological and anatomical evidences indicates that two distinct receptors population are present in rat striatum. Life Sci. 23: 1745-1750. 1978.

Gibson, S., McGregor, E.G. and Mc Gear, P.L. Effect of selective inhibitors of tyrosine and Tryptophan hydroxylases on self-stimulation in the rat. Exp. Neurol. 27: 283-290. 1970.

Goodman, I.J., and Brown, J.L. Stimulation of positively and negatively reinforcing sites in the avian brain. Life Sci. 5: 693-704. 1966

Hodos, W., Motivational properties of long duration of rewarding brain stimulation. J. Comp. Physiol. Psychol. 59: 219-224. 1965.

Hoffman, M., Jommi, G.C., Montefusco, O., Tonon, G.C., Spano, P. F. and Trabucchi, M. Stereospecific effects of (-)sulpiride on brain dopamine metabolism and prolactin release. J. of Neurochemistry. 37: 1547-1550 1979.

Huges, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgan, B.A. Morris, H.R. Identification of the two related pentapeptides from the brain with potent opiate activity. Nature 258: 577-579. 1975.

Iversen, L.L., Quirk, M., Emson, P.C., Dowling, J.K. and Watling, K.J. Further evidence for the existence of multiple receptors for dopamine in the central nervous system. Receptors for Neurotransmitters and peptide hormones. Ed. Pepeu, Kuhar and Enne Raven Press. New York. 1980

Jerner, P., Clow, A., Reavill, C., Theodoru, A. and Marsden, C. D. A behavioral and biochemical comparison of dopamine receptor blockade produced by haloperidol with that produced by substituted benzamine drugs. Life Sci. 23: 545-550. 1978.

Jung, C.H. and Boyd, E.S. Effects of cholinergic drugs on self-stimulation response rates in rats. Am Physiol. 210: 432-434. 1966

Kebabian, J.W. and Calne, D.B. Multiple receptors for dopamine. Nature. 277. 1979

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

Milgram, N.W. Effects of hippocampal stimulation of feeding in the rat. Physiol. Behav. 4: 665-670. 1969

- Mora, F. The neurochemical substrates of prefrontal cortex self-stimulation: A review and a interpretation of some recent data. Life Sci. 22: 919-930. 1978.
- Mora, F., Sanguinetti, A. M., Rolls, E.T. and Shaw, S.G. Differential effects on self-stimulation and motor behaviour produced by microintracranial injections of a dopamine receptor blocking agent. Neurosc. Letters. 1: 179-184. 1975.
- Mora, F., Phillips, A.G., Koob, J.M. and Rolls, E.T. Prefrontal cortex and neostriatum self-stimulation in the rat: Differential effects produced by apomorphine. Brain Res. Bull. 1: 421-424. 1976 a.
- Mora, F., Rolls, E.T., Burton, M.J. and Shaw, S.G. Effects of dopamine-receptor blockade on self-stimulation in the monkey. Pharmac. Biochem. Behav. 4: 211-216. 1976 b.
- Mora, F., Sweeney, F., Rolls, E.T. and Sanguinetti, A.M. Spontaneous firing rate of neurones in the prefrontal cortex of the rat: Evidence for a dopaminergic inhibition. Brain Res. 116: 516-522. 1976. c
- Mora, F., Myers, R.D. and Sanguinetti, A.M. Self-stimulation of the MFB or VTA after microinjection of haloperidol into the prefrontal cortex of the rat. Pharmac. Biochem. Behav. 6: 236-241. 1977 a.

- Mora, F. and Myers, R.D. Brain self-stimulation: direct evidence for the involvement of dopamine in the prefrontal cortex. Science. 197: 1387-1389. 1977 B.
- Mora, F., Alba, F., Sanguinetti, A.M., Rodriguez, J.M. and Vives F. Differential effects produced by an anticholinergic on the neuroleptic inhibition of motor behavior and self-stimulation of the prefrontal cortex in the rat. Brain Res. Bull. 5. 1980
- Olds, J. Differentiation of rewards systems in the brain by electrical self-stimulation techniques. In: Electrical studies on the unanesthetized brain. E.R. Ramsey and D.S. O'Doherty eds. Paul Holber, New York . 1960.
- Olds, J. and Milner, P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. J. Comp. Physiol. Psychol. 47: 419-427. 1954.
- Olds, J., Travis, R.P. and Shwing, H.C. Topographic organization of hypothalamic self-stimulation functions. J. Comp. Physiol. Psychol. 53: 23-32. 1960
- Olds, J. and Olds, M.E. Drives, rewards and the brain. In: New directions in psychology. II. Barron, F. and W.C. Dement, eds. Holt, Rinehart and Winston, New York. 1965

- Olds, M.E. and Domino, E.F. Comparison of muscarinic and nicotinic cholinergic agonist on self-stimulation behavior. J. Pharmacol. Exp. Ther. 166: 189-204. 1969 a.
- Olson, L., Seiger, A., Fuxe, K. Heterogeneity of striatal and limbic dopamine innervation: highly fluorescent islands in the developing and adult rats. Brain Res. 11: 283- 288. 1972.
- Phillips, A.G. and Mogenson, G. J. Self-stimulation of the olfactory bulb. Physiol. Behav. 4: 196-197. 1969.
- Phillips, A.G. Enhancement and inhibition of olfactory bulb self-stimulation by odours. Physiol. Behav. 5: 1127-1131. 1970.
- Phillips, A.G., Carter, D.A. and Fibiger, H.C. Dopaminergic substrates of intracranial self-stimulation in the caudate-putamen. Brain Res. 104: 201- 232. 1976.
- × Phillips, A.G. and Fibiger, H.C. The role of dopamine in maintaining intracranial self-stimulation in the ventral tegmentum, nucleus accumbens and medial prefrontal cortex. Canad. J. Psychol. 32: 58-66. 1978.
- Phillips, A.G., Mora, F., Rolls, E.T. Intracranial self-stimulation in orbitofrontal cortex and caudate nucleus of rhesus monkey: effects of amorphine, pimozide and spiperone. Psychopharmacology. 62: 79-82. 1979.

- Pradhan, S.N. and K.A.Kamat, Action of cholinergic agonist and antagonist on self-stimulation. Arch. int. Pharmacodyn. 196: 321-329. 1972.
- Pradhan, S.N. Balance of central neurotransmitter actions in self-stimulation behavior. In: Brain stimulation reward. A Wauquier and E.T. Rolls eds., North-Holland, Amsterdam. 171-186. 1976.
- Ritter, S. and Stein L. Self-stimulation of noradrenergic cell group (A 6) in locus coeruleus of rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 85: 443-452. 1973.
- Roberts, W.W. Both rewarding and punishing effects from stimulation of posterior hypothalamus of cat with same electrode and same intensity. J. Comp. Physiol. Psychol. 51: 400-407. 1968.
- Rolls, E.T. The neuronal basis of brain stimulation reward. Proc. in Neurobiol. 3: 71-160. 1974.
- Rolls, E.T. The brain and reward. Pergamon Press. Oxford. 1975.
- Rose, J.E. and Woolsey, C. N. The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. Res. Publ. Ass. Neurol. Ment. Dis. 27: 210-232. 1948.

- Routtenber, A. Forebrain pathways of reward in *Rattus norvegicus*.
J. Comp. Physiol. Psychol. 75: 269-276. 1971.
- Routtenberg, A. El sistema de recompensa del cerebro. Investigación y Ciencia. 2: 76-78. 1979.
- x Routtenberg, A. and Huang, Y.H. Reticular formation and brainstem unitary activity: effects of posterior hypothalamic and septal-limbic stimulation at reward loci. Physiol. Behav. 3: 611-617. 1968.
- Routtenberg, A. and Malsbury, C. Brainstem pathways of reward.
J. Comp. Physiol. Psychol. 68: 22-30. 1969.
- x Routtenberg, A. and Sloan, H. Self-stimulation in the prefrontal cortex of the *Rattus norvegicus*. Behav. Biol. 7: 567-572. 1972.
- Sanguinetti, A.M. Bases dopaminérgicas de la autoestimulación cerebral. Tesis Doctoral. 1979.
- Sam-Jacobsem, C.W., Torkildsen, A. Depth recording and electrical stimulation in the human brain. In: Electrical studies on the unanesthetized brain. E. A. Ramsey and D.S. O'Doherty Eds. Hoeber, N.Y. 1960.

- Silbargeld, E.K. and Preifler, R.F. Differential effects of three dopamine agonist: Apomorphine, Bromocriptine and lergotrile. Journal of Neurochemistry. 28: 1323-1326. 1977.
- Stark, P. and Boyd, E.S. Effects of cholinergic drugs on hypothalamic self-stimulation response in dogs. Amer. J. Physiol. 205: 745-758. 1963.
- Stein, L. and Bellizi, J.D. Brain endorphins: possible role in reward - memory information. Federation Proc. 38: 2468-2472. 1979.
- Tagliamonte, A., Moutin, G. de, Olanas, M.L., Vargiu, G.U. and Gessa, G.L. Selective increase of brain dopamine synthesis by sulpiride. Journal of Neurochemistry. 24: 707-710. 1975.
- Tassin, J.P., Bockaert, J., Blanc, G., Stinus, L., Thierry, A.M., Laviell, S., Premont, J. and Glowinski, J. Topographical distribution of dopaminergic innervation and dopaminergic receptors of the anterior cerebral cortex of the rat. Brain Res. 154: 241-252. 1978.
- Thierry, Am., Blanc, G., Sobel, A., Stinus, L. and Glowinski, J. Dopaminergic terminals in the rat cortex. Science. 182: 499-501. 1973.
- Van der Kooy, D. and Phillips A.G. Trigeminal substrates of intracranial self-stimulation of the prefrontal cortex Fed. Proc. 39: 1095 1977.

- Van Rossum, J.M. Two types of dopamine receptors in behavioral regulation. Fed. Proc. 37: 2415-2421. 1978.
- Vives, F., Alba, F., Osorio, C., Mora, F. Is acetylcholine involved in self-stimulation of the prefrontal cortex?. Fed. Proc. 39: 1095.
- Wauquier, A. Neuroleptics and brain self-stimulation behavior. Int. Rev. Neurobiology. 21.
- Wauquier, A. and Niemeegers. The effects of dexetimide on pimozide-, haloperidol-, and pimiperone-induced inhibition of brain self-stimulation in rats. Archives Internat. Pharmacodyn. Therap. 217: 287-292. 1975 e.
- Wauquier, A., Rolls, E.T. eds. Brain stimulation reward. North Holland. Amsterdam. 1976.
- Wise, C. D., Berger, B.D. and Stein, L. Evidence of alfa-norenergic reward receptors and serotonergic punishment receptors in the rat brain. Biol. Psychiat. 6: 3-21. 1973.