

BASES NEURALES DE LA AUTOESTIMULACION EN LA
CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE LA RATA: ESTU-
DIO DE VIAS CORTICOFUGALES.

Manuela Pilar Cobo Aceituno
Granada, Septiembre 1986

Todos los experimentos realizados en esta Tesis - de Licenciatura han sido llevados a cabo en el Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Facultad de Medicina de Granada. Parte de los resultados obtenidos - han sido publicados como sigue:

- Ferrer, J.M.R.; Cobo, M. y Mora, F. "Supression of self-stimulation of the medial prefrontal cortex after lesion of sulcal prefrontal cortex or cortical injections of kainic acid". Neurosci. Letters, suppl. 18: S 126 (1984).
- Cobo, M. ; Ferrer, J.M.R. y Mora, F. "Is the prefronto-entorhinal pathway involved in self-stimulation of the medial prefrontal cortex of the rat?". Neurosci. Letters, suppl. 22: S 161 (1985).
- Cobo, M.; Ferrer, J.M.R.; Sabater, R. and Mora, F. "Effects of lesions of external-capsule on self-stimulation of the prefrontal cortex of the rat". Presentada al 10º Congreso Europeo de Neurociencias que se celebrará en Marsella del 14 al 18 - de Septiembre de 1986. (in press).

D. Francisco Mora Teruel, Profesor Titular de Fisiología, y D. José Manuel Rodríguez Ferrer, Profesor Colaborador de Fisiología de la Facultad de Medicina de Granada, declaran que la Tesis de Licenciatura titulada "Bases neurales de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata: estudio de vías corticofugales", que presenta D^a. - Manuela Pilar Cobo Aceituno para optar al grado de Licenciada en Medicina y Cirugía ha sido realizada bajo su dirección.

Granada, 1 de Septiembre de 1986

F. Mora

J.M.R. Ferrer

A mi familia

"A veces en la vida ocurren -
terremotos, y sólo cuando el piso
acaba de moverse, uno advierte que,
entre otras cosas, las nostalgias
han cambiado de sitio".

(Mario Benedetti)

"Cuéntame algo, lo olvidaré.
Muéstramelo, podré recordarlo.
Sin embargo, implícame en ello y
lo comprenderé".

(Proverbio chino)

A todos aquellos que con su
dedicación, entusiasmo o apoyo -
han hecho mi trabajo más fácil.

"Allí estaba este inmenso mundo, que exis
te independientemente de los hombres y que se
alza delante de nosotros como un grande y etero
no enigma, pero que es accesible, al menos parcialmente, a la inspección y al pensamiento humanos. La contemplación de este mundo es como
una liberación".

(Einstein)

"Nuestras vidas no deben pasar sin dejar
alguna memoria en la mente de los hombres".

(Leonardo da Vinci)

"La ciencia y el arte coinciden en que -
ambas existen para facilitar la vida de los -
hombres".

(Bertolt Brecht)

7

A.- INTRODUCCION.

1.- Aspectos generales de la autoestimulación cerebral.....	2
1.1.- Estructuras cerebrales que sostienen autoestimulación: estudios de mapeo....	3
1.2.- Lesiones cerebrales y autoestimulación.	4
1.3.- Técnicas histológicas.....	9
1.4.- Estudios electrofisiológicos.....	11
1.5.- Estudios neuroquímicos y neurofarmacológicos.....	13
2.- Corteza prefrontal y autoestimulación.....	27
2.1.- Definición y límites neuroanatómicos de la corteza prefrontal.....	28
2.2.- Conexiones corticales y subcorticales de la corteza prefrontal: aferencias y eferencias.....	34
2.3.- Estructuras y vías relacionadas con la autoestimulación en la corteza prefrontal.....	36
2.4.- Neurotransmisores y autoestimulación en la corteza prefrontal.....	44
3.- Resumen y planteamiento de la investigación presentada en esta Tesis de Licenciatura.....	54

B.- MATERIAL Y METODOS.

B.1.- Métodos generales.....	60
1.- Animales.....	60
2.- Material y procedimientos.	
2.1.- Realización de implantes cerebrales.....	61
2.1.1.- Electrodo.....	61
2.1.2.- Quemitrodo.....	62
2.2.- Procedimiento quirúrgico: estereotaxia.....	66
3.- Métodos experimentales.	
3.1.- Registro de la actividad motora espontánea.....	74
3.2.- Registro de la actividad motora operacional.....	76
3.3.- Estimulación eléctrica cerebral..	79
3.3.1.- Obtención de autoestimulación cerebral.....	80
3.4.- Lesión de estructuras cerebrales.	84
3.4.1.- Lesión neuroquímica.....	84
3.4.2.- Lesión electrolítica.....	87
4.- Histología.....	90
5.- Estadística.....	92
B.2.- Detalle de la metodología seguida en cada uno de los experimentos presentados en esta Tesis de Licenciatura.....	95

C.- RESULTADOS.

- 1.- Efectos de la lesión neurotóxica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial..... 99
- 2.- Efectos de la lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial..... 111
- 3.- Abolición de la autoestimulación (SS) en la corteza prefrontal medial (CPM) tras la lesión electrolítica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal (CPS) y claustró..... 121
- 4.- Mantenimiento de la autoestimulación (SS) en la corteza prefrontal medial (CPM) tras la lesión neurotóxica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal (CPS) y claustró..... 129
- 5.- Efectos de la lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal (CE) sobre la autoestimulación (SS) en la corteza prefrontal medial (CPM) 138

D.- <u>DISCUSION</u>	150
1.- Sobre la participación de las eferencias de la corteza prefrontal medial al labio superior del surco rinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.....	153
2.- Sobre la participación de las eferencias a la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y/o claustro en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.....	157
3.- Sobre la participación de las eferencias a la corteza entorrinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.....	163
E.- <u>CONCLUSIONES</u>	169
F.- <u>BIBLIOGRAFIA</u>	170
G.- <u>APENDICE</u> .	
1.- Abreviaturas.....	198

INTRODUCCION

En el estudio de las bases neurofisiológicas de la motivación y la recompensa se han seguido fundamentalmente dos estrategias experimentales: la primera ha centrado su atención en la localización de las estructuras cerebrales implicadas en la regulación de la ingesta de comida, bebida y demás conductas cuyo fin es el de satisfacer necesidades biológicas (Grossman, 1979); la segunda, la autoestimulación cerebral, estudia un sistema más general que participa en el control central de las conductas motivadas (Olds, 1962; Olds, 1976; Routtenberg, 1976).

La autoestimulación cerebral fué descrita por primera vez por Olds y Milner en 1954. Este fenómeno consiste en que un animal es capaz de aprender y ejecutar una respuesta operacional, con objeto de obtener estimulación eléctrica en su propio cerebro a través de un electrodo intracerebral implantado crónicamente. Se describió inicialmente en la rata (Olds y Milner, 1954), pero posteriormente ha sido demostrada en otras especies animales, incluyendo al hombre. Así, se ha demostrado autoestimulación en monos (Brady, 1960), peces (Boyd y Gardner, 1962), delfín (Lilly y Miller, 1962), perro (Stark y Boyd, 1963), aves (Goodman y Brown, 1966), conejos (Bruner, 1966), gatos (Roberts, 1968) y en el hombre (Sem - Jacobsen y Torkildsen, 1960). Sin embargo, los trabajos realizados, han sido llevados a cabo en su mayor parte, en la rata (Wauquier y Rolls, 1976).

La investigación realizada en esta Tesis de Licenciatura trata de dilucidar la participación de vías eferentes en el substrato neural de la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

1.- ASPECTOS GENERALES DE LA AUTOESTIMULACION CEREBRAL.

A lo largo de los últimos treinta años, el desarrollo de técnicas básicas ha permitido el avance en el conocimiento del proceso de autoestimulación cerebral.

Así, en un principio las investigaciones se centraron en el estudio de las áreas del cerebro que soportan este tipo de conducta y en la influencia de la lesión de ciertas estructuras sobre la autoestimulación. Paralelo a ello, se han realizado estudios sobre la influencia de ciertas drogas en la iniciación y mantenimiento de dicho fenómeno.

El descubrimiento más reciente de localización específica de neurotransmisores y sus vías, así como el desarrollo de técnicas electrofisiológicas (registro unitario) han permitido un avance considerable en el conocimiento de los substratos neuroanatómicos y neuroquímicos que median la autoestimulación cerebral.

En este capítulo han sido ordenados estos estudios, siguiendo un orden relativamente cronológico, en los siguientes apartados:

- Estudios de mapeo.
- Estudios neuroanatómicos (lesión cerebral y técnicas histológicas).
- Estudios electrofisiológicos.
- Estudios neuroquímicos y neurofarmacológicos.

1.1.- ESTRUCTURAS CEREBRALES QUE SOSTIENEN AUTOESTIMULACION: ESTUDIOS DE MAPEO.

Los estudios de mapeo consisten en localizar las estructuras cerebrales que sostienen autoestimulación. Estas áreas se encuentran bastante bien definidas en la rata tras los estudios realizados en el cerebro de dicho animal. Estos trabajos han sido revisados sucesivamente por Olds y Olds (1965), Rolls (1974), Olds (1976) y Olds y Fobes (1981).

En un sentido craneo-caudal las estructuras que soportan autoestimulación en la rata son: bulbo olfatorio (Phillips y Mogenson, 1969), corteza prefrontal (Routtenberg, 1971, 1978; Routtenberg y Sloan, 1972; Mora, 1978; Robertson y Mogenson, 1979), núcleos septales (Olds et al., 1960), núcleos accumbens (Routtenberg y Huang, 1968), amígdala (Wurtz y Olds, 1963; Hodos, 1965), Hipocampo (Ursin et al., 1966), caudado (Olds, 1960), cortezas entorrinal, retrosplenial y cingular (Stein y Ray, 1959; Collier et al., 1977; Brady y Conrad, 1960). En el diencefalo ventral las áreas que presentan autoestimulación tienden a concentrarse en el hipotálamo lateral, y en general a lo largo del fascículo prosencefálico medial (FPM), desde la banda diagonal de Broca hasta el área ventrosegmental de Tsai (Olds y Olds, 1963; Valenstein y Campbell, 1966). En el tronco del encéfalo se ha descrito autoestimulación en la sustancia gris central (Cooper y Taylor, 1967), sustancia negra (Routtenberg y Malsbury, 1969; Huang y Routtenberg, 1971), área del locus coeruleus (Kitter y Stein, 1973), núcleos profundos del cerebelo y región parabraquial (Ball et al., 1974), región peribraquial del tegmento dorsal (Routtenberg, 1976) y en la región del nú-

cleo trigémino (Van der Kooy y Phillips, 1977). Recientemente, Clavier y Gerfen (1982) han obtenido autoestimulación en distintos núcleos talámicos: núcleo dorsomedial (excepto en su segmento central), - núcleos intralaminares (centromedial, parafascicular, paracentral y central lateral), complejo nuclear ventro-medial (excepto al núcleo gelatinoso), núcleos - de la línea media (romboides, paratenial y paraventricular), núcleos ventrobasal y ventrolateral y grupos nucleares anteriores y posteriores.

1.2.- LESIONES CEREBRALES Y AUTOESTIMULACION.

Los estudios que utilizan lesiones (electrolíticas o neurotóxicas) se plantean sobre la base de interrumpir vías aferentes o eferentes (terminales o no) al área donde están situados los electrodos que sostienen autoestimulación. La lesión de terminales sinápticas o de fibras de paso a través de una estructura que soporta autoestimulación puede atenuar, abolir o facilitar dicho proceso. Si su función es moduladora o facilitadora se producirá una atenuación o abolición de la conducta y si es inhibidora se producirá una facilitación de la misma.

En un principio, en los estudios de lesiones de estructuras relacionadas con autoestimulación se emplearon exclusivamente métodos físicos de lesión (lesión electrolítica, sección mecánica de fibras o inyección intracraneal de anestésicos locales). Posteriormente, la descripción y localización de somas que contienen dopamina en el mesencéfalo (Dählstrom y Fuxe, 1964), así como la localización de sus fibras de proyección (Ungerstedt, 1971; Lindvall et al.,

1974), permitieron el empleo de agentes neurotóxicos. Estos agentes son altamente selectivos y permiten la destrucción de los cuerpos neuronales, origen de una vía determinada, sin afectar las fibras o axones de paso a través de esa estructura. Esto permite discernir si los resultados obtenidos se deben a la lesión de uno u otro sistema. Así, la 6 hidroxidopamina (6 OH - DA) destruye las células que contienen catecolaminas (Kostrzewa y Jacobowitz, 1974), mientras que la 5 - 7 dihidroxitriptamina, lesiona las células serotoninérgicas (Baumgarten et al., 1974). Otros agentes neurotóxicos como el ácido kaínico o el iboténico (neuroexcitotoxinas), empleados a dosis y volumen precisos, destruyen selectivamente los cuerpos neuronales respetando las terminales axónicas y las fibras de paso del área inyectada independientemente del neurotransmisor que contengan dichas neuronas (Hattori y McGeer, 1977; Schwartz et al., 1980; Gerfen y Clavier, 1981; Nassif et al., 1984).

Los trabajos realizados sobre lesiones y autoestimulación cerebral han sido revisados sucesivamente por Valenstein (1969), Lorens (1976) y Olds y Fobes (1981). En este apartado se describen los resultados más relevantes obtenidos con estas técnicas.

La mayor parte de los trabajos se han centrado sobre la autoestimulación del fascículo prosencefálico medial e hipotálamo lateral. Lesiones electrolíticas del fascículo prosencefálico medial disrumpen la autoestimulación en el hipotálamo lateral. Así, Boyd y Gardner (1967) y Olds y Olds (1969) han demostrado una atenuación de la autoestimulación en hipotálamo lateral tras pequeñas lesiones del fascículo prosencefálico medial en áreas posteriores (núcleo interpeduncular) y anteriores (área preóptica) a la posi-

ción del electrodo estimulador. En las lesiones caudales esta atenuación fué mayor y la autoestimulación se recuperó más tardíamente. Tras la inyección de procaina y lidocaina en estas áreas se han obtenido resultados similares (Nakajima, 1976). La inyección de anestésicos en amígdala basolateral produce una abolición temporal de la autoestimulación en hipotálamo lateral (Kelly, 1974). Las modificaciones producidas por la lesión de estructuras límbicas sobre la autoestimulación del hipotálamo lateral se caracterizan por ser temporales, tanto las facilitatorias (lesión del septum; Keesey y Powley, 1968) como las inhibitorias (lesión de amígdala e hipocampo; Lorenz, 1976). Esto sugiere un efecto modulador de las estructuras límbicas sobre la autoestimulación en el hipotálamo lateral pero no parecen ser esenciales para dicho proceso. Este aspecto fué definitivamente demostrado por Huston y Boberly (1973); estos autores lesionan todo el neocortex, además de hipocampo y amígdala y el animal sigue siendo capaz, en condiciones experimentales especiales, de autoestimularse en hipotálamo lateral.

Otra serie de trabajos han estudiado los efectos de lesiones sobre la autoestimulación en otras áreas cerebrales. Así, lesiones del hipocampo, amígdala, hipotálamo anterior y área ventrosegmental mesencefálica (Kant, 1969; Boyd y Celso, 1970; Kelly, 1974) facilitan la autoestimulación del septum mientras que la lesión del tálamo posteromedial la inhibe (Boyd y Celso, 1970). La lesión del hipotálamo lateral no modifica la autoestimulación en el septum (Kant, 1969). Por otra parte, la lesión de la sustancia negra atenúa la autoestimulación en el núcleo caudado (Phillips et al. 1976).

Recientemente se han realizado estudios sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal. Así, lesiones del área ventrosegmental del mesencéfalo producen una atenuación permanente de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial (Phillips y Fibiger, 1978; Morales, 1982). Por otra parte, la lesión del núcleo dorsomedial del tálamo produce una atenuación temporal de la autoestimulación en este área cortical (Vives et al., 1986). Recientemente, se ha demostrado que la sección bilateral de las conexiones existentes entre la corteza prefrontal sulcal y medial produce una atenuación permanente de la autoestimulación en esta última área (Corbett et al. 1982). Por otra parte, la lesión electrolítica de la corteza prefrontal sulcal produce una atenuación de la autoestimulación en la sustancia negra (Clavier y Corcoran, 1976).

A partir del conocimiento de la distribución en el sistema nervioso central de los sistemas monoaminérgicos (Dahlstrom y Fuxe, 1964; Ungerstedt, 1971) se han realizado lesiones en estructuras y vías que contienen estos neurotransmisores, mediante neurotoxinas que las destruyen selectivamente. La 6 OH - DA es una neurotoxina que destruye selectivamente las neuronas que contienen catecolaminas y su aplicación en el sistema noradrenérgico ascendente, reduce severamente la autoestimulación en la sustancia negra (Belluzzi et al., 1975). Por otra parte, la inyección de 6 OH - DA en el sistema dopaminérgico mesocortical produce una atenuación permanente de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial y sulcal (Phillips y Fibiger, 1978; Clavier y Gerfen, 1979). Los resultados obtenidos tras el empleo de 6 OH - DA sugieren la implicación de los sistemas catecolaminérgicos

gicos en el proceso de autoestimulación cerebral -
(German y Bowden, 1974; Stein, 1978; Fibiger, 1978).

Los agentes neurotóxicos como el ácido kaínico o el iboténico que destruyen selectivamente cuerpos neuronales, permiten discernir si son neuronas intrínsecas o fibras de paso por una determinada área, los responsables de los efectos sobre la autoestimulación cerebral (Schwartz et al., 1980; Gerfen y Clavier, 1981; Childs y Gale, 1983; Nassif et al. 1984). Así, Lestang et al. (1985) han obtenido una atenuación de la autoestimulación en la parte anterior del fascículo prosencefálico medial tras la inyección de ácido iboténico en la porción central de hipotálamo lateral. Estos resultados sugieren que la autoestimulación en la parte anterior del fascículo prosencefálico medial está mediada por fibras originadas en la parte central del hipotálamo lateral (Lestang et al., 1985). Por otra parte, la inyección de ácido kaínico en la corteza prefrontal sulcal (Gerfen y Clavier, 1981) produce una abolición de la autoestimulación en dicha área cortical. Igualmente, la lesión neuroquímica de la corteza prefrontal medial ocasionada tras la inyección de ácido kaínico (Ferrer et al., 1984) o de iboténico (Nassif et al., 1985) produce una abolición de la autoestimulación en este área cortical. Sin embargo, los datos obtenidos tras la inyección de ácido iboténico en hipotálamo lateral son controvertidos. Así, mientras Sprick et al. (1985) no obtienen modificación significativa de la autoestimulación, los estudios realizados por Lydia Velley (1985) y Nassif et al. (1985) muestran una disminución de la autoestimulación en hipotálamo lateral. Los resultados obtenidos sugieren que las neuronas intrínsecas a la corteza prefrontal sulcal, me

dial y posiblemente hipotálamo lateral, participan en el substrato neural de la autoestimulación en dichas áreas.

1.3.- TECNICAS HISTOLOGICAS.

En este capítulo se describen y evalúan las vías cerebrales implicadas en el proceso de autoestimulación cerebral. En 1^a lugar se comentan las técnicas histológicas empleadas en el estudio de las eferencias y en 2^a lugar las utilizadas en el estudio de las aferencias.

Para estudiar las eferencias de estructuras que sostienen autoestimulación, el primer método empleado consistió en la lesión de áreas que previamente mostraron autoestimulación y posterior identificación de la degeneración axónica originada, mediante la técnica de tinción de Fink Heimer (1967), (Routtenberg, 1971; Huang y Routtenberg, 1971). Posteriormente, se han utilizado métodos de transporte axonal anterógrado de aminoácidos radioactivos (L - (5 - ^3H) - prolina; 2,3 ^3H - prolina; ^3H - leucina, etc...). Estos aminoácidos marcados se inyectan en áreas que soportan autoestimulación, y posteriormente se detectan por técnicas autorradiográficas los axones o terminales axónicas que contienen estos aminoácidos (Dalsass et al., 1981).

En este sentido, Routtenberg en 1971, tras lesionar la corteza prefrontal y mediante la técnica de tinción de Fink-Heimer describe en la rata una vía que, originándose en la corteza prefrontal, desciende atravesando las porciones mediales del neocó-

triado, cápsula interna y porción lateral del fascículo prosencefálico medial. Este autor ha sugerido - la posible participación de estos axones frontales - en la autoestimulación del núcleo caudado y del propio fascículo prosencefálico medial. Por otra parte, mediante el método de Fink Heimer, se ha comprobado que pequeñas lesiones en puntos de autoestimulación del fascículo prosencefálico medial dan lugar a terminaciones degeneradas en sustancia negra. Lesiones en puntos más mediales de dicho fascículo mostraron patrones de proyección distintos, observándose terminales degeneradas en el área ventrosegmental. Tanto la sustancia negra como el área ventrosegmental presentan autoestimulación cerebral (Huang y Routtenberg, 1971). Con el empleo de técnicas autorradiográficas de aminoácidos, Dalssas et al. (1981) han refrendado parcialmente estos resultados. Estos últimos autores han mostrado las eferencias de puntos de autoestimulación en la corteza prefrontal hacia estructuras diencefálicas y mesencefálicas.

Por su parte, el estudio de las aferencias se ha llevado a cabo mediante el método del transporte axonal retrógrado de la peroxidasa del rábano. Esta enzima, inyectada en un área, es captada por las terminales axónicas y transportada retrógradamente al soma neuronal, donde puede ser fijada y revelada (Graham y Karnovsky, 1966). De esta forma, administrando peroxidasa en áreas que sostienen autoestimulación, se puede describir las aferencias a las mismas (Clavier, 1979; Vives et al., 1983). En este sentido, Hopkins (1976) estudió las aferencias mesencefálicas a puntos rostrales del fascículo prosencefálico medial en donde puede obtenerse autoestimulación. Estas aferencias provienen en su mayor parte del área ventrosegmental y núcleos del rafe dorsal, en menor proporción se observaron aferencias origina

das en el locus coeruleus y sustancia negra (en estas áreas se ha obtenido autoestimulación). Por otra parte, Clavier (1979) ha sugerido la posible participación en la autoestimulación de la región pontina - de las aferencias provenientes del complejo trigeminal, región parabraquial, células del fascículo proencefálico medial, núcleos profundos del cerebelo y de los núcleos del rafe dorsal. Estructuras, estas - últimas, que también sostienen autoestimulación.

Recientemente, se han descrito las aferencias - subcorticales a puntos de autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata (Vives et al., - 1983). Algunas de las aferencias descritas por estos autores, en concreto las originadas en el área ventro tegmental-sustancia negra, han sido implicadas en - el proceso de autoestimulación de la corteza prefrontal medial (Phillips y Fibiger, 1978).

Los resultados obtenidos mediante las técnicas histológicas han sugerido la participación de determinadas vías en el proceso de autoestimulación cerebral. Estos estudios han servido de base para posteriores investigaciones en las que se han utilizado - técnicas electrofisiológicas y neuroquímicas (Mora - et al., 1979; Corbett et al., 1982; Ferrer et al., 1983).

1.4.- ESTUDIOS ELECTROFISIOLOGICOS.

Para conocer mejor los sistemas que median el - proceso de autoestimulación cerebral, es preciso - identificar las neuronas que están implicadas directa o indirectamente en dicho fenómeno, así como la.

actividad neural que tiene lugar en áreas específicas durante la realización del mismo. En este sentido, los estudios electrofisiológicos juegan un papel crucial en el conocimiento de los sistemas centrales que median los procesos de motivación y refuerzo.

Lo más relevante de las investigaciones electrofisiológicas sobre autoestimulación cerebral son los estudios concernientes a registros unitarios realizados durante la conducta operacional, o aquellos realizados en animales anestesiados que previamente habían sido testificados con electrodos para autoestimulación. Los resultados obtenidos por ambos procedimientos han sido similares (Ito y Olds, 1971; Rolls, 1975 y 1976).

Los primeros en analizar la modificación del disparo espontáneo (activación o inhibición) durante la autoestimulación fueron Gallistel et al. (1969), - Rolls (1971) e Ito y Olds (1971). Estos autores estudiaron la modificación del disparo espontáneo de neuronas en distintas áreas cerebrales durante la autoestimulación en el hipotálamo lateral. Más tarde, diversos autores han contribuido al estudio de los sistemas neurales envueltos en este tipo de conducta - (Rolls, 1972; Routtenberg, 1973; Olds, 1977; Segal y Bloom, 1974). Así, Rolls (1972, 1975, 1976) ha descrito, durante la autoestimulación en el hipotálamo lateral, la activación de neuronas en amígdala, septum, mesencéfalo y puente. La activación observada - en amígdala y septum no se acompañó de activación - cortical. Como consecuencia se puede sugerir que la activación cortical no es un elemento esencial en el fenómeno de autoestimulación.

Por otra parte, Rolls y Cooper (1973, 1974) demostraron que la autoestimulación en el hipotálamo -

lateral y puente, activa ambas divisiones de la corteza prefrontal (medial y sulcal) en la rata. Este fenómeno también ha sido descrito por Mora et al. (1979) en la corteza órbito-frontal del primate, área que se corresponde con la corteza prefrontal sulcal de la rata (Leonard, 1969; Krettek y Price, 1977).

Segal y Bloom (1974) han descrito que durante la autoestimulación en el locus coeruleus se produce una inhibición de la actividad espontánea en neuronas de las áreas CA 1 y CA 3 del hipocampo. Estos autores han sugerido, que esta inhibición es, en parte, responsable del mantenimiento de la autoestimulación en dicha región pontina. No obstante, Hall et al. (1977) critican estos resultados sugiriendo que la inhibición observada en el hipocampo está relacionada con otros aspectos neurales (estímulos sensoriales de este área) y no con el proceso de autoestimulación pontino como tal.

1.5.- ESTUDIOS NEUROQUÍMICOS Y NEUROFARMACOLÓGICOS.

Los estudios neuroquímicos y neurofarmacológicos tratan de dilucidar los posibles neurotransmisores que participan en el inicio y mantenimiento de la autoestimulación cerebral.

German y Bowden en 1974 sugieren la participación de las catecolaminas en el proceso de autoestimulación cerebral tomando como base la coincidencia en la localización cerebral de los sistemas catecolaminérgicos centrales y de las estructuras cerebrales que presentan autoestimulación. Esta hipótesis catecolaminérgica ha sido apoyada por el hecho de que

drogas que actúan sobre el metabolismo central catecolaminérgico afectan profundamente la autoestimulación cerebral (Olds y Travis, 1960; Stein, 1968; Mora et al., 1975; Ferrer et al., 1983).

Aún cuando los sistemas catecolaminérgicos centrales fueron los primeros implicados en el proceso de autoestimulación cerebral, existen datos experimentales que sugieren la participación de otros neurotransmisores como la serotonina, acetilcolina y, recientemente, el grupo de los péptidos neurotransmisores.

1.5.1.- DOPAMINA.

La dopamina se distribuye en regiones cerebrales muy concretas, a diferencia de la noradrenalina cuya presencia se extiende a casi todo el cerebro. Actualmente son bien conocidas las vías dopaminérgicas centrales de la rata (ver figura 1), (Ungerstedt, 1971; Lindvall et al., 1974; Berger et al., 1974; Olds y Fobes, 1981). Estas vías son:

1.- Sistema nigroestriatal. Se origina en la pars compacta de la sustancia negra e inerva al caudado-putamen, núcleo amigdalino central y cíngulo.

2.- Sistema mesolímbico. Se origina en el área ventro tegmental e inerva estructuras límbicas como el tubérculo olfatorio, septum y núcleo accumbens, así como al núcleo intersticial de la stría terminalis.

3.- Sistema mesocortical. Se origina en el área ventro tegmental y porción medial de la pars compacta de la sustancia negra e inerva a la corteza prefrontal.

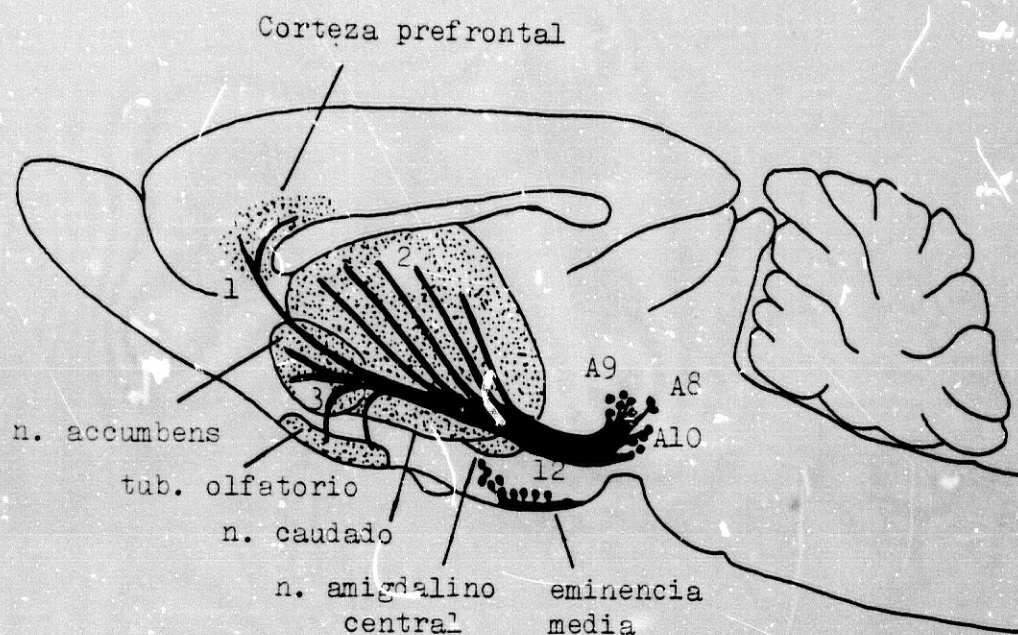


FIGURA 1.

Representación en el cerebro de la rata de las -
vías dopaminérgicas ascendentes y de sus núcleos de -
origen. 1: vía mesocortical. 2: vía nigroestriatal. -
3: vía mesolímbica. (modificada de Ungerstedt, 1971).

tal medial y sulcal.

Estos tres sistemas han sido implicados en el proceso de autoestimulación (German y Bowden, 1974; Mora, 1978; Fibiger, 1978).

4.- Sistema tubero-infundibular. Se origina en un conjunto de núcleos situados a lo largo del núcleo periventricular y en el núcleo arcuato e inerva la capa externa de la eminencia media.

La hipótesis de la participación de la dopamina en el proceso de autoestimulación cerebral se basa en una serie de hechos:

a.- Estudios neuroanatómicos han mostrado que la autoestimulación puede ser obtenida en áreas que predominantemente contienen neuronas dopaminérgicas. Así, se ha obtenido autoestimulación en la sustancia negra (origen del sistema nigroestriatal) y el área ventrosegmental (origen de los sistemas mesolímbico y mesocortical) (Routtenberg y Malsbury, 1969; Crow, 1972; Broekkamp y Phillips, 1979).

b.- Estudios neurofarmacológicos, basados fundamentalmente en los efectos de los neurolepticos (bloqueantes de los receptores dopaminérgicos) sobre la autoestimulación, han mostrado que, tanto la administración sistémica como la intracerebral, producen una atenuación en diversas áreas estudiadas (Mora et al., 1975, 1976; Ferrer et al., 1983). Esta atenuación parece ser específica y no debida a un impedimento motor causado por los mismos (Rolls, 1974; Mora et al., 1975, 1976; Ferrer et al., 1983).

c.- Estudios neuroquímicos, utilizando las técnicas de perfundido intracerebral in vivo (Mora y Myers, 1977), han mostrado que durante la autoestimulación en la corteza prefrontal medial se produce una liberación de dopamina.

d.- Lesiones por 6 - OHDA, una neurotoxina específica para la destrucción de neuronas dopaminérgicas, han mostrado que la deplección selectiva de dopamina abole la autoestimulación. En este sentido, Phillips y Fibiger (1978) han descrito que la deplección de casi el 95 % de la dopamina en la corteza prefrontal medial produce una atenuación permanente de la autoestimulación de esta área. Clavier y Gerfen (1979) han mostrado que, tras la lesión del fascículo prosencefálico medial con 6 - OHDA, se produce una abolición de la autoestimulación de la corteza prefrontal sulcal.

Otro argumento empleado a favor de la participación de la dopamina en el proceso de autoestimulación, es el hecho de que la d - anfetamina (una droga que impide el proceso de recaptación de la dopamina) facilita la autoestimulación en áreas que contienen dopamina, como son el hipotálamo lateral, la sustancia negra y el núcleo accumbens (Phillips y Fibiger, 1973; Keith y Vaccarino, 1983; Predy y Kokkinidis, 1984). Además, la D - anfetamina restaura la abolición de la autoestimulación producida por la reserpina (droga que produce una deplección de catecolaminas) (Vanderwolf et al., 1984).

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

1.5.2.- NORADRENALINA.

La noradrenalina cerebral tiene su origen en el

locus coeruleus, núcleos A₁, A₂, A₅, A₇, así como en determinadas áreas de la región de los núcleos del rafe (Dählstrom y Fuxe, 1964; Ungerstedt, 1971; Lindvall y Bjorklund, 1974), (ver fig. 2). Partiendo de estas estructuras, se originan tres vías noradrenérgicas:

1.- Fascículo noradrenérgico dorsal. Se origina en el locus coeruleus y, tras ascender por el fascículo prosencefálico medial, inerva a toda la corteza, hipocampo, septum, amígdala y prosencéfalo basal. Igualmente, la inervación noradrenérgica del cerebelo proviene de este sistema.

2.- Fascículo noradrenérgico ventral. Se origina en los núcleos A₁, A₂, A₅ y A₇. Sus proyecciones inicialmente unidas a las del fascículo noradrenérgico dorsal, se separan de él y se sitúan en una posición medial, vehiculizándose a lo largo del lemnisco medial, para ascender posteriormente por el fascículo prosencefálico medial. Las terminales de este sistema inervan a la porción más caudal del mesencéfalo y diencéfalo, hipotálamo, núcleos paraventricular y supraóptico, área preóptica y núcleo intersticial de la estría terminal.

Estos dos sistemas han sido implicados en el proceso de autoestimulación. Así, se ha obtenido autoestimulación tanto en puntos de origen como en las terminales (Stein, 1968, 1978; Wauquier y Rolls, 1976; Mora et al., 1977; Mora et al., 1980; Olds y Fobes, 1981).

3.- El tercer sistema se origina en la región del núcleo del rafe y, tras ascender atravesando la sustancia gris central, inerva a los núcleos talámicos mediales y al núcleo dorsomedial del hipotálamo.

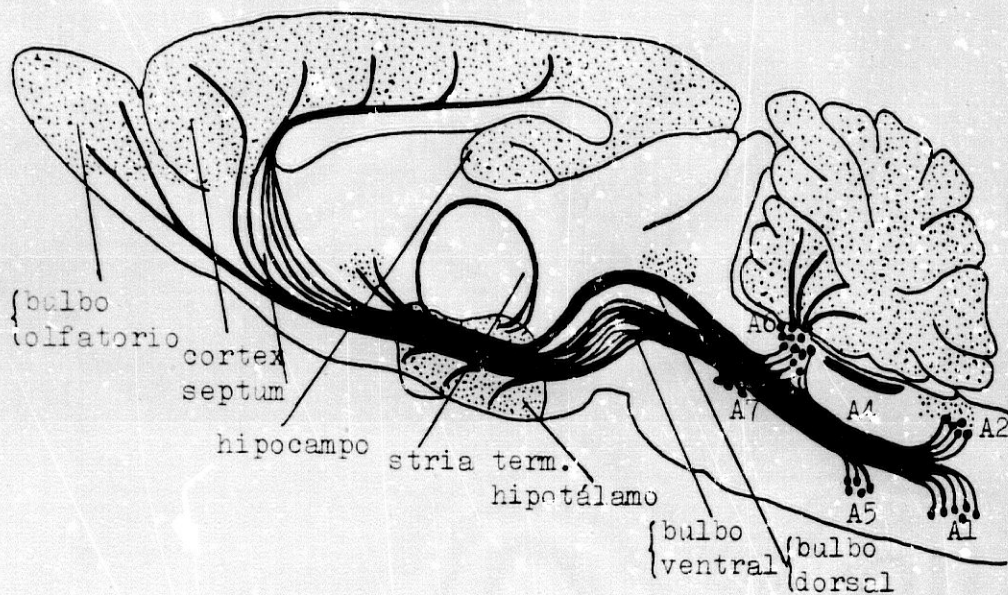


FIGURA 2.

Representación en el cerebro de la rata, de las vías noradrenérgicas ascendentes y de sus núcleos de origen. (tomada de Ungerstedt, 1971).

La hipótesis noradrenérgica de la autoestimulación cerebral fué inicialmente propuesta por Stein (1968, 1978) y se basa fundamentalmente en tres hechos:

a.- Puede ser obtenida autoestimulación en el origen de las vías noradrenérgicas dorsal y ventral.

b.- La d - anfetamina facilita la autoestimulación.

c.- La supresión de la autoestimulación producida por drogas que inhiben la síntesis de noradrenalina (como son la alfa metil - paratirosina o el disulfirán), puede ser restaurada por la administración intraventricular de noradrenalina.

Estos argumentos han sido ampliamente rebatidos, poniendo en duda la participación de la noradrenalina en el proceso de autoestimulación cerebral (Rolls, 1970; Clavier y Routtenberg, 1975; Clavier et al., 1976; Clavier y Fibiger, 1977; Fibiger, 1978; Sanguinetti, 1979). No obstante, la mediación de la noradrenalina en este proceso no puede ser descartada totalmente (Wise, 1978; Fibiger, 1978; Unemoto y Olds, 1981).

1.5.3.- SEROTONINA.

La vía serotoninérgica cerebral se origina en los núcleos del rafe dorsal y ventral, y ascendiendo por el fascículo prosencefálico medial, inerva a estructuras diencefálicas, límbicas y corticales (Ungerstedt, 1971), (ver fig. 3).

Estudios farmacológicos han mostrado que la serotonina presenta efectos inhibitorios sobre la autoestimulación cerebral (Pradhan, 1976). En este sentido,

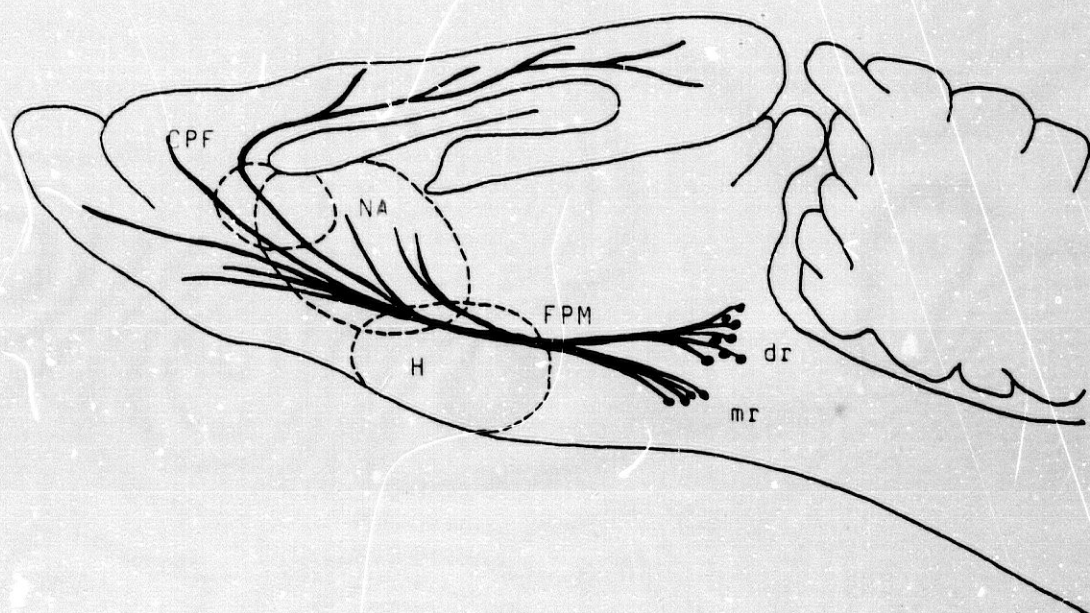


FIGURA 3.

Representación en el cerebro de la rata, de los núcleos de serotonina y de las vías serotoninérgicas originadas en ellos.

Abreviaturas: dr, rafe dorsal. mr, rafe medial. FPM, fascículo prosencefálico medial. H, hipotálamo. NA, núcleo accumbens. CPF, corteza prefrontal. (Tomado de Breese y Cooper, 1975).

Wise, Berger y Stein (1973) obtienen una inhibición - de la autoestimulación tras inyecciones intraventricu- lares de 5 OH-triptamina.

No obstante, se han descrito resultados contra- dictorios a cerca de la participación de la serotoni- na en la autoestimulación cerebral. Así, la paracloro fenilendiamina (fármaco que bloquea la biosíntesis de la serotonina, inhibiendo a la enzima triptófano- hi- droxilasa y como consecuencia produce un vaciamiento del contenido cerebral de serotonina), produce una in- hibición (Gibson et al., 1970), una facilitación (Pos- chel y Ninteman, 1971), o no afectación de la autoes- timulación cerebral (Ramírez et al., 1983).

1.5.4.- ACETILCOLINA.

La acetilcolina está ampliamente distribuida por el sistema nervioso central. Actualmente se conoce - bastante bien la localización de los cuerpos neurona- les acetilcolinérgicos, así como sus vías de proyec- ción en el cerebro (Shute y Lewis, 1967). Así, se ha demostrado la existencia de dos vías que inervan de - acetilcolina al cerebro anterior:

1.- Vía dorsotegmental. Se origina en el núcleo cuneiforme e inerva al tectum, área retectal, cuerpo geniculado y tálamo.

2.- Vía ventrotegmental. Se origina en la subs- tancia negra y área ventrotegmental y proyecta sobre toda la corteza cerebral y bulbo olfatorio.

Stark y Boyd (1963) han descrito que fármacos - que actúan a nivel de los sistemas acetilcolinérgicos

afectan al proceso de autoestimulación cerebral. Posteriormente, se propuso a la acetilcolina como posible neurotransmisor relacionado con dicho fenómeno (Olds y Domino, 1969; Mora et al., 1980).

En este mismo sentido, Jung y Boyd (1966) han sugerido que el sistema colinérgico ejerce una acción inhibitoria sobre la autoestimulación cerebral basándose en el hecho de que la fisostigmina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa (enzima que hidroliza a la acetilcolina) inhibe dicho proceso.

Actualmente se conoce la existencia de dos tipos de receptores colinérgicos en el sistema nervioso central. Estos son los receptores muscarínicos y nicotínicos. Precisamente, Heilbronn (1978) ha demostrado que, en el cerebro, existe un predominio de los receptores muscarínicos sobre los nicotínicos.

Por otra parte, Pradhan y Kamata (1972) han sugerido que los efectos estimuladores nicotínicos pueden estar mediados por la noradrenalina que paralelamente es liberada por ellos.

Estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado que la acetilcolina a través de los receptores muscarínicos juega un papel inhibitorio sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata (Vives y Mora, 1986).

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

1.5.5.- PEPTIDOS NEUROTRANSMISORES.

Un nuevo campo dentro de la neurotransmisión en relación con 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 endorfinas y encefalinas, (péptidos opiáceos), así como con la colecistoquinina y --substancia P.

Los péptidos opiáceos están densamente distribuidos en el hipotálamo, núcleo accumbens, substancia --gris central y locus coeruleus. Una revisión sobre la participación de los péptidos opiáceos en la autoestimulación cerebral ha sido realizada por Espósito y --Kornetsky (1977). Estos autores, y recientemente --otros investigadores, han descrito que la administración de agonistas y antagonistas de los receptores --opiáceos afecta a la autoestimulación en diferentes --áreas del cerebro, tales como: área ventro tegmental, substancia negra, substancia gris central, núcleo paratenial, globus pallidus fascículo prosencefálico medial e hipotálamo lateral y corteza prefrontal, (Lo--rens, 1976; Liebman y Segal, 1977; Broekkamp y Phillips, 1979; Nazzaro et al., 1981; Shaw et al., 1984; Ichitani et al., 1985).

Otros estudios han mostrado que tanto la morfina como las encefalinas presentan propiedades de refuerzo. Así, se ha descrito autoadministración cerebral --en ratas de estas substancias (Stein, 1978; Olds y Willians, 1980). Finalmente, Olds y Fobes (1981) han --descrito que el naloxone, un antagonista específico --de la morfina, revierte las acciones sobre la autoestimulación de la morfina y encefalinas.

El hecho de que los efectos facilitadores de la morfina y encefalinas sean inhibidos cuando se bloquea la transmisión dopaminérgica (Broekkamp y Phillips, 1979), junto con la evidencia de que los opioides tienen efectos sobre la actividad de las neuronas dopaminérgicas del área ventrosegmental (Kelley et al., 1980), han sugerido que la acción de éstos sobre el proceso de autoestimulación cerebral puede estar mediada por los sistemas dopaminérgicos (Stein y Belluzzi, 1979; Phillips et al., 1981; Shaw et al., 1984; Stein, 1985).

Por su parte, la colecistoquinina y la sustancia P se encuentran presentes en estructuras que sostienen autoestimulación como son la corteza prefrontal medial, área ventrosegmental, hipotálamo, amígdala y mesencéfalo (Krieger, 1983). No obstante, son pocos los trabajos que han correlacionado estos péptidos con la autoestimulación de estas áreas. En este sentido, Goldstein y Malick (1977) han demostrado que la sustancia P administrada en el hipotálamo lateral produce una atenuación de la autoestimulación en dicha área durante los primeros 5 minutos postinyección. Fekete et al., (1983) han demostrado que la colecistoquinina administrada en el fascículo prosencefálico medial inhibe la autoestimulación del mismo. Estudios realizados en este laboratorio (Ferrer et al., 1984) han mostrado que inyecciones intraventriculares o intracerebrales de sustancia P producen una atenuación dosis-relacionada de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Por otra parte, inyecciones de sustancia P realizadas en el área ventrosegmental mesencefálica (estructura origen de la dopamina prefrontal) no modificaron la autoestimulación en la corteza prefrontal medial (Ferrer et al., 1984). Estos últi-

mos resultados apoyan la interpretación de una posible acción selectiva y directa de la substancia P sobre el proceso de autoestimulación en la corteza prefrontal medial.

2.- CORTEZA PREFRONTAL Y AUTOESTIMULACION.

INTRODUCCION

Como ya ha sido apuntado, la autoestimulación cerebral fué descrita inicialmente por Olds y Milner en 1954. Posteriormente, Routenberg (1971) en un estudio de mapeo sistemático demostró que, en la corteza frontal, sólo aquellas dos áreas definidas como corteza prefrontal (medial y sulcal de Leonard, 1969) soportan autoestimulación cerebral. La autoestimulación en este área cortical presenta características claramente diferentes de la autoestimulación en otras áreas cerebrales como septum, hipotálamo lateral - fascículo prosencefálico medial o caudado (Rolls, 1975). Recientemente estas características, junto con el desarrollo ontogénico y sus peculiaridades, han sido objeto de diversos estudios (Corbett et al., 1982, 1985; Schenk y Shizgal, 1985). Una exhaustiva revisión sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal ha sido publicada recientemente por Mora y Ferrer (1986).

Dada la complejidad neuroanatómica de la corteza prefrontal en la rata, así como de sus conexiones (aférencias y eferencias), en este capítulo se detallan: 1º los límites neuroanatómicos de la corteza prefrontal y 2º las conexiones corticales y subcorticales de esta estructura, para a continuación tratar de la relación corteza prefrontal - autoestimulación.

2.1.- DEFINICION Y LIMITES NEUROANATOMICOS DE LA CORTEZA PREFRONTAL.

La corteza prefrontal ha sido definida en los primates como el área del polo frontal que recibe las proyecciones corticales del núcleo dorsomedial del tálamo (Rose y Woolsey, 1948). Este área se sitúa en la porción más rostral del polo frontal y, en los primates, está delimitada dorsolateralmente por el surco arcuato (surco presilviano en los demás carnívoros) y por la extremidad anterior del surco cingulado, en su superficie medial. La corteza prefrontal, en el primate, se subdivide en tres áreas: la corteza dorsolateral (área 9 de Broadmann), la orbital y las áreas frontales oculares (área 8 de Broadmann). La denominación del área 8 como áreas frontales oculares proviene del hecho de que la estimulación de la misma origina movimientos oculares (Fuster, 1980).

El núcleo dorsomedial del tálamo proyecta a la corteza prefrontal de forma sistematizada topográficamente. Así, podemos distinguir tres segmentos en el núcleo dorsomedial del tálamo: un segmento medial (magnocelular) que proyecta sobre la corteza prefrontal orbital, un segmento lateral (parvocelular) que proyecta sobre la corteza dorsolateral y un tercero extremolateral (paralamelar) que proyecta sobre el área 8 de Broadmann.

La corteza prefrontal, en el primate, se caracteriza citoarquitectónicamente por ser una isocorteza, dividida en 6 capas, en las que destaca la presencia de la capa granular IV bien desarrollada. Sin embargo, en mamíferos inferiores tales como los roedores, la corteza de la porción rostral del polo frontal no pre

senta una capa granular interna bien definida. La ausencia de esta capa granular ha conducido a varios autores a sugerir que la corteza prefrontal está ausente o es muy limitada en estas especies (L. Mann, 1909). Posteriormente, Rose y Woolsey (1948) sugirieron que la corteza orbitofrontal (área de proyección del núcleo dorsomedial del tálamo) podría ser considerada en los mamíferos inferiores como equivalente a la corteza prefrontal de los primates. No obstante, estos estudios, basados en técnicas de degeneración retrógrada, mostraban a la corteza orbitofrontal como un área demasiado pequeña en relación al tamaño del núcleo dorsomedial del tálamo.

Leonard (1969, 1972), con la aplicación de técnicas de degeneración anterógrada mostró que el núcleo dorsomedial del tálamo, en la rata, proyecta a un área más amplia en el lóbulo frontal. Este área conforma la corteza prefrontal, y en ella se puede distinguir dos regiones bien diferenciadas:

- 1.- Corteza prefrontal medial que comprende la mayor parte de la pared medial, anterior y dorsal a la rodilla del cuerpo calloso.

- 2.- Corteza prefrontal sulcal o porción lateral del labio dorsal del surco rinal.

Krettek y Price (1977) han revisado y ampliado estos estudios iniciales de Christine Leonard, empleando una técnica más específica, como es el transporte axonal anterógrado de prolina. Estos autores, tras describir las subdivisiones citoarquitectónicas del núcleo dorsomedial del tálamo y de la corteza frontal, han realizado un análisis exhaustivo de las áreas de proyección de dicho núcleo talámico en la corteza prefrontal de la rata (estas áreas conforman la corteza prefrontal), (ver fig. 4, 5, 6 y 7). Así:

1.- El segmento medial del núcleo dorsomedial - del tálamo proyecta sobre el área agranular insular - dorsal y el área prelimbica (área 32 de Broadmann).

2.- El segmento lateral proyecta sobre el área - cingular anterior (área 24 de Broadmann), área precen-
tral medial y posiblemente, sobre el área orbital ven-
tral.

3.- El segmento central proyecta sobre el área - insular agranular ventral y corteza orbital lateral. Estas dos áreas corresponden a la corteza prefrontal sulcal en los estudios de Leonard (1969, 1972).

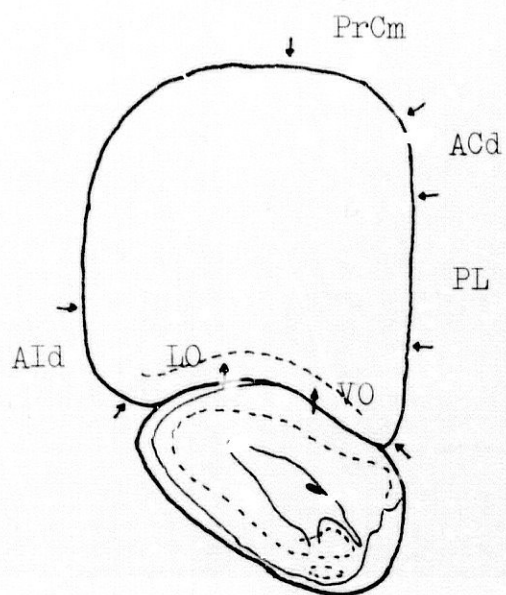
Por tanto, las proyecciones del núcleo dorsome-
dial del tálamo a la corteza prefrontal presentan una
estricta sistematización topográfica y las áreas de -
proyección de cada segmento no se superponen en la -
corteza prefrontal. En cuanto al patrón de termina-
ción laminar, las proyecciones del núcleo dorsomedial
del tálamo terminan preferentemente en la capa III y
en menor proporción en la capas I y VI, habiendo casi
ausencia de terminaciones en las capas II y V (Kre-
ttet y Price, 1977 a).

Aún cuando, clásicamente se pensaba que sólo los
mamíferos poseían corteza prefrontal, recientemente -
Reiner (1986) ha mostrado que ciertos pájaros poseen
una región tlencefálica que se corresponde anatómica
y funcionalmente con la corteza prefrontal de los ma-
míferos. Estos estudios sugieren la posibilidad de -
que la corteza prefrontal también se encuentra en -
otras especies animales.

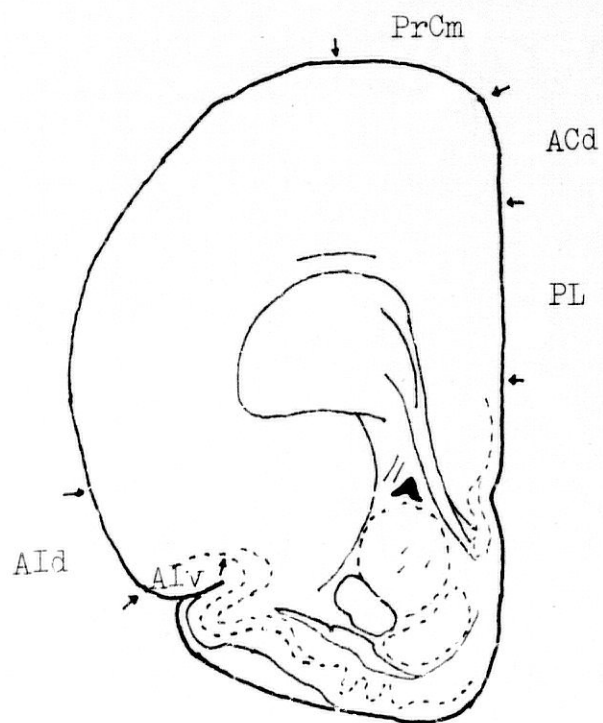
FIGURAS 4, 5, 6 y 7.

Representación, en secciones frontales del cerebro de rata, de la localización topográfica de las áreas de la corteza prefrontal descritas en el apartado 2.1. Las flechas indican los límites entre las distintas áreas corticales.

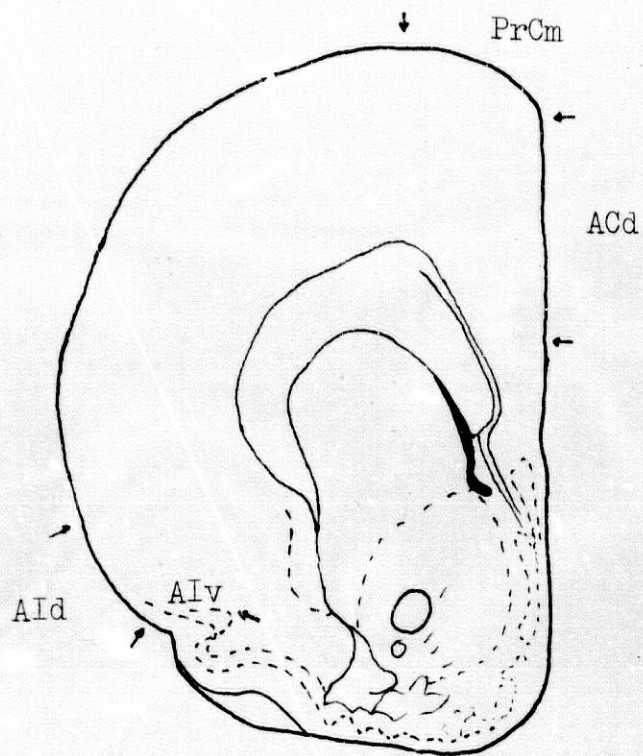
Abreviaturas: ACd: área cingular anterior dorsal, ACv: área cingular anterior ventral, AId: área insular agranular dorsal, AIv: área insular agranular ventral, Lo: área orbital lateral, PrCm: área precentral medial, PL: área prelimbica, VO: área orbital ventral (modificada de Krettek y Price, 1977 a; Kolb, 1984).



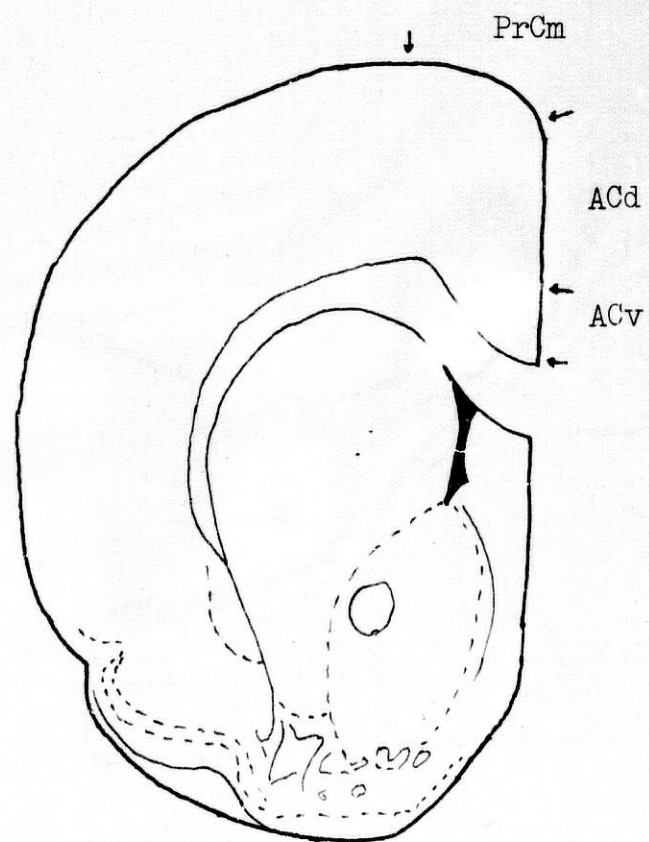
A 11050 μ



A 10050 μ



A 9650 μ



A 8620 μ

2.2.- CONEXIONES CORTICALES Y SUBCORTICALES DE LA CORTEZA PREFRONTAL: AFERENCIAS Y EFERENCIAS.

Además de las aferencias del núcleo dorsomedial del tálamo, antes descritas y que han sido utilizadas en la rata para definir la corteza prefrontal, en el presente capítulo se describen las aferencias y eferencias de la corteza prefrontal de este animal.

Divac et al. (1978), mediante la técnica del transporte axonal retrógrado de la peroxidasa del rábamo, han realizado un estudio de las conexiones aferentes a la corteza prefrontal de la rata. Estas aferencias se pueden dividir en 4 grupos en cuanto a su origen:

a.- Aferencias de la corteza y prosencéfalo basal. La corteza prefrontal medial y sulcal establecen conexiones recíprocas entre sí. Igualmente, ambas sub divisiones de la corteza prefrontal reciben aferencias de la amígdala basolateral, claustró y núcleo magnoce lular.

b.- Aferencias talámicas. La corteza prefrontal medial recibe aferencias del núcleo dorsomedial, antero medial, intralaminar, paratenial, axial, ventral, lateral, y lateral posterior. Vives et al. (1983) en un estudio más reciente, han mostrado aferencias desde los núcleos parafascicular, anteroventral, ventromedial, ventrolateral, posteroventral, posteromedial y reuniens. Por su parte, la corteza prefrontal sulcal recibe aferencias de los núcleos dorsomedial, intralaminar, axial y lateral posterior.

c.- Aferencias del área hipotalámica. Ambas sub divisiones de la corteza prefrontal reciben aferencias

del hipotálamo lateral, zona incerta y sustancia gris periventricular dorsal y lateral.

d.- Aferencias del mesencéfalo. Tanto la corteza prefrontal medial como la sulcal reciben aferencias de los núcleos del rafe dorsal y central, área ventro tegmental-sustancia negra, locus coeruleus y para-braquial. Recientemente, se han descrito nuevas aferencias a la corteza prefrontal medial. Así, Sarter y Markowitsch (1983) han descrito una aferencia a la corteza prefrontal medial originada en el núcleo ventro tegmental de Gudden. Igualmente, Sanaka et al. (1983) han descrito una aferencia desde el núcleo tegmental laterodorsal de Castaldi.

Por otra parte, Bekstead (1979), mediante la técnica del transporte axonal anterógrado de aminoácidos marcados (2.3^3 H-prolina y L - 2.5^3 H-leucina), ha realizado una revisión de las eferencias de la corteza prefrontal en la rata. De este estudio se deduce que la corteza prefrontal establece un extenso sistema de proyección, que puede dividirse en cinco grupos:

a.- Eferencias a corteza. La corteza prefrontal medial proyecta a la corteza prefrontal sulcal, corteza retrosplenial, área 29 de Broadmann, corteza perirrinal y entorrinal y presubiculum. La corteza prefrontal sulcal, emite eferencias a la corteza prefrontal medial, porción anterior de la corteza piriforme, área retrosplenial, corteza entorrinal lateral y presubiculum.

b.- Eferencias a estriado y prosencéfalo basal. La corteza prefrontal medial proyecta sobre los núcleos caudodoputamen, accumbens, septum lateral, núcleo de la banda diagonal de Broca, tubérculo olfatorio, -

amígdala basal, lateral y central (ipsilateral y, en menor grado, contralateral), y claustro. La corteza prefrontal sulcal presenta similares eferencias, a excepción de la amígdala central.

c.- Eferencias a núcleos talámicos. La corteza prefrontal medial proyecta sobre los núcleos parafascicular, paratenial, dorsomedial, anteromedial, anteroventral, ventromedial, reuniens, romboidal, lateral posterior y habénula lateral. Por su parte, la corteza prefrontal sulcal proyecta sobre los núcleos reticular, ventromedial, gelatinoso, reuniens y dorsomedial. En general las conexiones talámicas de la corteza prefrontal son bilaterales.

d.- Eferencias al área hipotalámica. La corteza prefrontal medial emite eferencias a los núcleos del hipotálamo lateral y posterior, área preóptica lateral, área supramamilar, pretectum, sustancia gris central y zona incerta. La corteza prefrontal sulcal proyecta al área preóptica e hipotálamo posterior y lateral.

e.- Eferencias a mesencéfalo. La corteza prefrontal medial proyecta sobre el colículo superior, sustancia negra (pars compacta y menos en la reticular), área ventrosegmental, núcleo central superior de Bechterev, rafe dorsal y núcleos pontinos. La corteza prefrontal sulcal posee proyecciones similares pero menos extensas que las establecidas por la corteza prefrontal medial.

2.3.- ESTRUCTURAS Y VIAS RELACIONADAS CON LA AUTOESTIMULACION EN LA CORTEZA PREFRONTAL.

Una vez descritas las aferencias y eferencias de

la corteza prefrontal de la rata, vamos a centrarnos en las estructuras y vías relacionadas con la autoestimulación en dicha área cortical.

Dalsass et al. (1981), mediante técnicas de transporte axonal anterógrado de aminoácidos marcados (35 S - metionina), han mostrado las eferencias originadas en puntos donde puede obtenerse autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Por otra parte, Vives et al. (1983), mediante la técnica del transporte axonal retrógrado de la peroxidasa del rábano, han descrito las aferencias a puntos de autoestimulación en dicha estructura cerebral. Los resultados obtenidos expresados en las páginas 40 y 41, coinciden en gran parte con los estudios iniciales de Divac et al. (1978) y Bekstead (1979) descritos en el apartado anterior.

De los estudios de Dalsass et al. (1981) y Vives et al. (1983) se deduce que la corteza prefrontal medial establece conexiones recíprocas con estructuras que soportan autoestimulación. Estas estructuras son: la corteza prefrontal sulcal, hipotálamo lateral y posterior, amígdala basolateral, locus coeruleus, sustancia negra, área ventrotemental, núcleos del rafe y núcleo dorsomedial del tálamo. No obstante, hay excepciones, entre las que caben destacar las conexiones con los núcleos caudado-putamen, septum y accumbens; estructuras con las que la corteza prefrontal sólo establece conexiones eferentes.

Por otra parte, estudios electrofisiológicos realizados en la rata han demostrado que neuronas de la corteza prefrontal medial y de la corteza prefrontal sulcal son activadas antidrómicamente y transi--

nápticamente durante la autoestimulación del hipotálamo lateral y locus coeruleus (Ito y Olds, 1971; Rolls y Cooper, 1973, 1974).

En el primate, neuronas de la corteza orbitofrontal, un área homóloga a la corteza prefrontal sulcal en la rata (Krettek y Price, 1977 a), son activadas durante la autoestimulación en los núcleos accumbens, hipotálamo lateral, amígdala y locus coeruleus (Burton et al., 1976). Esto ha sugerido la participación de la corteza prefrontal orbital en la autoestimulación en estas áreas.

Recientemente, se han realizado estudios de lesión electrolítica y neuroquímica de estructuras que anatómica y electofisiológicamente, están relacionadas con la corteza prefrontal, mostrando los efectos sobre la autoestimulación en esta última área.

Así, en relación a las aferencias, Phillips y Fibiger (1978) han mostrado que la lesión del sistema mesocortical dopaminérgico, mediante 6 - OHDA, produce una atenuación permanente de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Similares resultados se han obtenido tras la lesión electrolítica del área ventrosegmental, origen de este sistema (Morales, 1982). De igual forma, la lesión de esta vía mediante 6 - OHDA produce una abolición de la autoestimulación en la corteza prefrontal sulcal (Clavier y Gerfen., 1979).

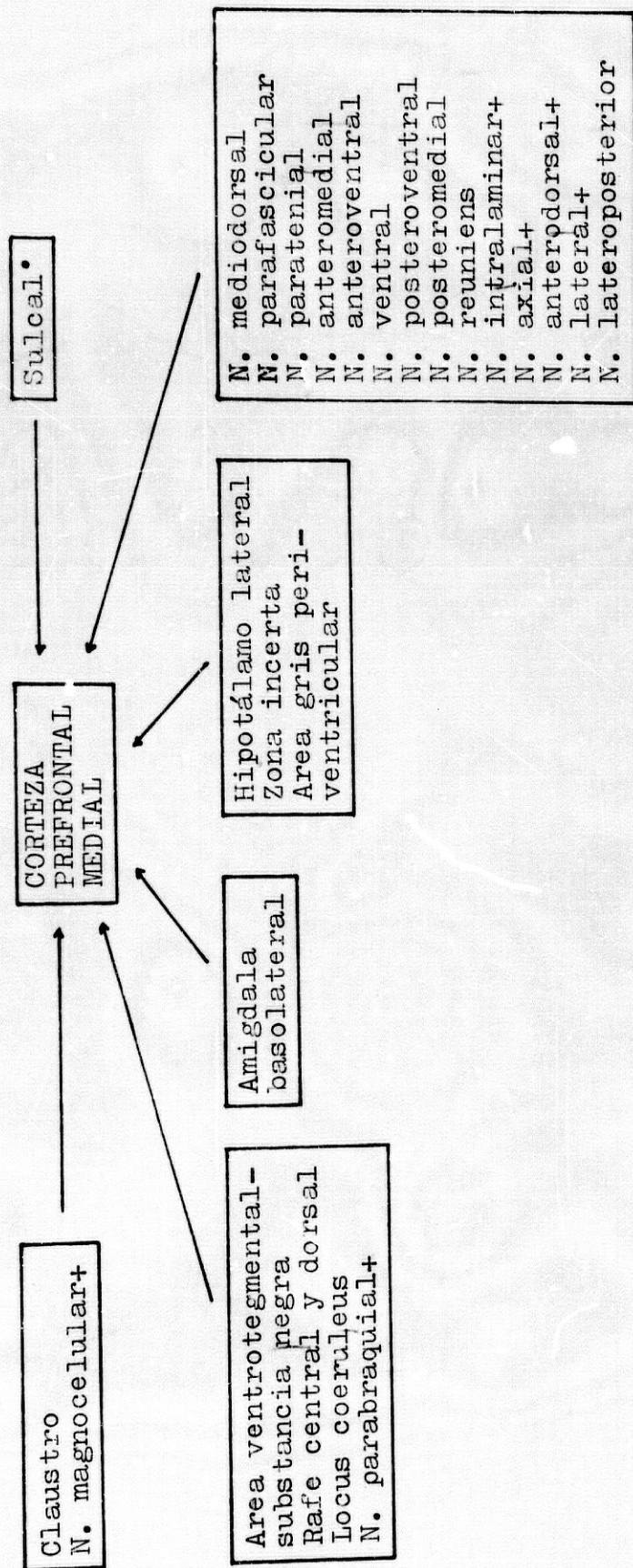
Otra de las aferencias estudiadas es la originada en el núcleo dorsomedial del tálamo. Esta, es la mayor aferencia subcortical no catecolaminérgica que recibe la corteza prefrontal medial, y que, por otra parte, ha sido utilizada como punto de referencia para delimitar la extensión, en el lóbulo frontal, de la corteza prefrontal en la rata (Leonar, 1969, 1972;

Krettek y Price, 1977). Los resultados obtenidos acerca de la participación de esta vía (núcleo dorsomedial del tálamo - corteza prefrontal medial) en la autoestimulación de dicha área cortical, son controvertidos. En este sentido, Corbett et al. (1982) han mostrado que la autoestimulación de la corteza prefrontal medial no se afecta tras la lesión electrolítica bilateral del núcleo dorsomedial del tálamo. Sin embargo, Vives et al. (1986) han mostrado una atenuación temporal de la autoestimulación tras la lesión electrolítica bilateral de dicho núcleo.

Igualmente, se ha estudiado la participación en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial, de las aferencias originadas en la amígdala basolateral, locus coeruleus y zona incerta. En este sentido, se ha mostrado que la lesión electrolítica del locus coeruleus (Ramirez et al., 1983), amígdala basolateral (Ferrer et al., 1984) y zona incerta (Ferrer et al., 1984) no produce alteración en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.

En relación a las eferencias, Corbett et al. (1982) han mostrado que la lesión electrolítica bilateral del hipotálamo lateral, así como la lesión electrolítica bilateral del núcleo accumbens, no afectan la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Igualmente, Vives et al. (1986) han mostrado que la lesión electrolítica bilateral del segmento anteromedial del caudado - putamen no afecta la autoestimulación en dicha área cortical. Estos resultados sugieren que las eferencias de la corteza prefrontal medial a hipotálamo lateral, núcleo accumbens y segmento anteromedial del caudado - putamen no participan en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

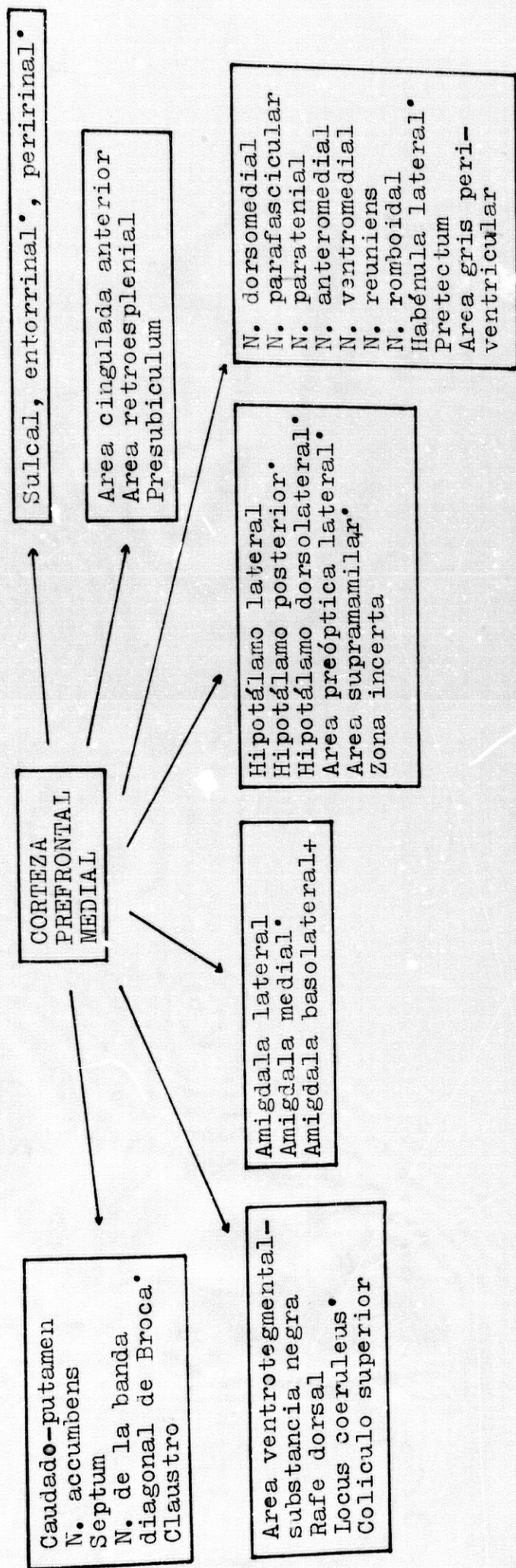
AFERENCIAS



Tonado de Vives, F. et al.; Behav. Brain Res., 8: 23-32 (1983)

• Beckstead, R.M.; J. Comp. Neur., 184: 43-62 (1979)
+ Divac, I. and Kosmal A.; Neuroscience, 3: 785-796 (1978)

REFERENCIAS



Tomado de Dalsass, M. et al.; Neuroscience, 6: 657-665 (1981)

- Beckstead, R.M.; J. Comp. Neur., 184: 43-62 (1979)
- + Sarter, M. and Markowitsch, H.J.; Neuroscience Letters, Suppl. 14: 322 (1983)

Por otra parte, Corbett et al. han mostrado que la sección mecánica bilateral de las conexiones existentes entre la corteza prefrontal medial y la corteza prefrontal sulcal abolen la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Estos resultados sugieren la posibilidad de que las fibras seccionadas sean las proyecciones (eferencias) que la corteza prefrontal medial emite a la corteza prefrontal sulcal.

Los resultados obtenidos en estas investigaciones sugieren la existencia de tres categorías diferentes de conexiones entre la corteza prefrontal medial y las estructuras corticales y subcorticales antes mencionadas (Vives et al., 1986; Mora y Ferrer, 1986). Estas son:

a.- Vías cuya activación es necesaria para el mantenimiento de la autoestimulación (área ventrotemporal- corteza prefrontal medial- área ventrotemporal).

b.- Vías cuya activación juega un papel modulador (n. dorsomedial del tálamo- corteza prefrontal medial - n. dorsomedial del tálamo).

c.- Vías cuya activación, no afecta la autoestimulación.

El hecho de que las lesiones del área ventrotemporal, origen del circuito aparentemente más involucrado en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial, no produzcan una abolición completa y duradera de la autoestimulación, (Phillips y Fibiger, 1978; Morales, 1982) ha sugerido que la activación de varios núcleos interconectados entre sí (circuito) puede ser la responsable del substrato neuroanatómico de la autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata (Mora y Ferrer, 1986). Así, estos autores

han elaborado recientemente una serie de circuitos po
siblemente implicados en el substrato neural de la au
toestimulación en dicha área cortical. Estos circui--
tos son:

1.- Corteza prefrontal medial-amígdala basolateral-n. dorsomedial del tálamo-corteza prefrontal me--
dial.

2.- Corteza prefrontal medial-n. dorsomedial del
tálamo- n. caudado (segmento interno)-corteza prefronta
l medial.

3.- Corteza prefrontal medial-corteza entorrinal
-área ventrosegmental-corteza prefrontal medial.

2.4.- NEUROTRANSMISORES Y AUTCESTIMULACION DE LA CORTEZA PREFRONTAL.

La mayoría de los neurotransmisores conocidos - en la actualidad están presentes en la corteza prefrontal. Así, se ha demostrado la localización en esta área cortical de dopamina, noradrenalina, acetilcolina, serotonina, péptidos neurotransmisores (como la colecistoquinina y la sustancia P) y aminoácidos neurotransmisores (como el GABA, y los ácidos aspártico y glutámico) (Ungerstedt, 1971; Lindvall et al., 1974; Berger et al., 1974; Emson, 1978; Emson et al., 1979; Stengaard et al., 1981). Recientemente además, se ha demostrado la existencia de múltiples receptores opiáceos (Willians y Zieglansberger; 1981), así como de terminales axónicas conteniendo neurotensina (Quirión et al., 1982) y neurofisiina A (Phillipson y Gonzalez, 1983) (ver figura 8).

A lo largo de los últimos años han aparecido estudios mostrando que algunos de estos neurotransmisores forman parte del substrato neuroquímico de la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. En concreto, evidencias neurofarmacológicas y neuroquímicas sugieren que la dopamina, la acetilcolina y la sustancia P, median este proceso en dicha área cortical (Mora, 1978; Mora et al., 1980; Ferrer et al., 1984; Vives y Mora, 1986). Una reciente revisión sobre el tema ha sido publicada por Mora y Ferrer (1986).

Seguidamente, se presenta una revisión crítica - de la posible participación de los neurotransmisores presentes en la corteza prefrontal en el proceso de autoestimulación en dicha área.

FIGURA 8.

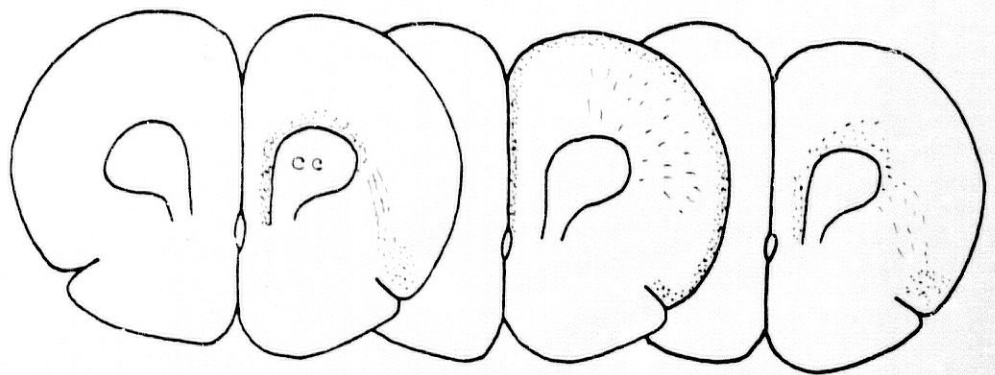
Representación de la localización en las capas de la corteza prefrontal, de las terminales que contienen dopamina (DA), noradrenalina (NA), acetilcolina (ach), sustancia P (SP), neurotensina (NT), neurofisinina A (NFA) y colecistoquinina (CCK). cc= cuerpo calloso.

Figuras tomadas de: Berger et al., 1976; Emson, 1973; Stengaard et al., 1981; Colrión et al., 1983; Phillipson y González, 1983; Sanaka et al., 1983.

DA

NA

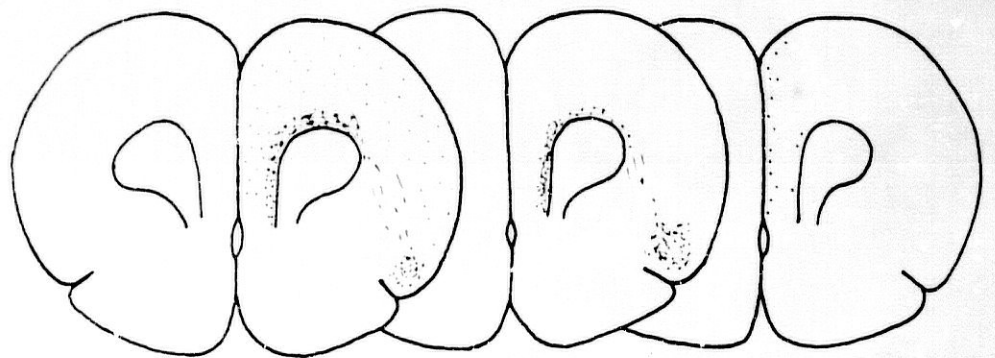
ach



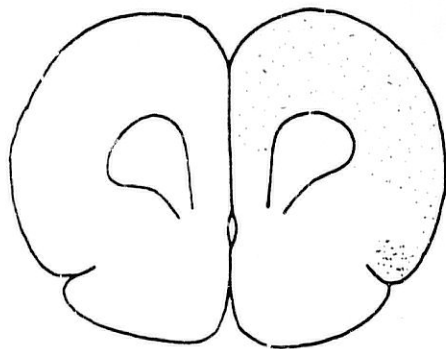
SP

NT

NFA



OCK



2.4.1.- DOPAMINA.

Thierry en 1973 demostró la presencia de dopamina en la corteza prefrontal. Estudios posteriores han corroborado estos datos y han descrito el origen de la dopamina cortical. Así, Lindvall et al. (1974) describieron la existencia de la vía mesocortical dopaminérgica que, originada en neuronas situadas en el área ventro tegmental del mesencéfalo (A 10 en la terminología de Dählström y Fuxe) y en la porción medial de la pars compacta de la sustancia negra, provee de dopamina a dicha área cortical.

La innervación dopaminérgica de la corteza prefrontal presenta una sistematización topográfica definida (Fuxe et al., 1974; Lindvall et al., 1974; Thierry et al., 1976).

Las terminales dopaminérgicas en la corteza prefrontal, a diferencia de las noradrenérgicas que se sitúan en las capas superficiales (I - III), se concentran en las capas más profundas (V - VI). En general, todas las capas reciben terminales tanto dopaminérgicas como noradrenérgicas (Berger et al., 1976) (ver fig. 3).

Existen una serie de trabajos que sugieren la participación de la dopamina en el sustrato neuroquímico de la autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata. Estudios iniciales realizados por Mora et al., han demostrado que la apomorfina (un agonista de los receptores dopaminérgicos), inyectada subcutáneamente, produce un descenso dosis relacionado de la tasa de autoestimulación en este área cerebral (Mora et al., 1976 a). Efectos similares han sido obtenidos por los mismos autores en la corteza or

bito-frontal del mono rhesus, (Phillips et al., 1979), un área que se corresponde con la corteza prefrontal sulcal de la rata (Leonard, 1969, 1972).

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

Estudios posteriores han demostrado la existencia de neuronas en la corteza prefrontal medial, que responden específicamente con una inhibición de su tasa de disparo espontáneo a la inyección sistémica de apomorfina, así como de L - dopa (un precursor de la dopamina) y de anfetamina (droga que aumenta la cantidad de dopamina en el espacio sináptico por aumento de su liberación, así como por bloqueo de su recaptación) (Mora et al., 1976 c; Phillips y Fibiger, 1978). Burney y Aghajanian (1976) confirmaron estos resultados mediante la aplicación iontoforética de dopamina y apomorfina en la corteza prefrontal de la rata.

Evidencias definitivas de que la autoestimulación cerebral produce una liberación de dopamina en la corteza prefrontal medial de la rata, han sido obtenidas por Mora y Myers (1977). Estos autores han demostrado una liberación de dopamina endógena en este área cerebral durante la autoestimulación en la misma. Estos resultados aportan una evidencia directa de la participación de la dopamina en el fenómeno de autoestimulación de dicha área cortical.

Estudios más recientes, realizados por Ferrer - et al. (1983), han mostrado que la neurotransmisión dopaminérgica implicada en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial, está mediada por receptores D_1 pero no D_2 , presentes ambos en este área cerebral (Tassin et al., 1978; Keibabian y Calne, 1979; - Iversen et al., 1980). Nakajima et al. han confirmado los estudios de Ferrer et al. utilizando un bloqueante específico de los receptores D_1 recientemente sintetizado (Nakajima et al., 1986).

Los estudios mencionados anteriormente aportan claras evidencias de la participación de la dopamina en el substrato neuroquímico de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata.

No obstante, este neurotransmisor no parece ser el mediador exclusivo, ya que la deplección en aproximadamente un 95% de los niveles de dopamina en la corteza prefrontal medial (tras la destrucción de la vía mesocortical dopaminérgica), produce sólo una reducción del 38% en la tasa de autoestimulación de dicha área (Phillips y Fibiger, 1978).

2.4.2.- NORADRENALINA Y SEROTONINA.

La inervación noradrenérgica proviene del locus coeruleus, mediante los axones que componen el fascículo noradrenérgico dorsal (Ungerstedt, 1971). Este fascículo provee de noradrenalina a toda la corteza cerebral. Las terminales noradrenérgicas se concentran sobre las capas más superficiales, hallándose la mayor densidad de terminales en la capa molecular

(Fuxe et al., 1968, Berger et al., 1976). Por su parte, la inervación serotoninérgica de la corteza prefrontal proviene de los núcleos del rafe dorsal y medial (Ungersted, 1971).

Existen muy pocos trabajos sobre noradrenalina y autoestimulación en la corteza prefrontal medial. En este sentido, Ramirez et al. han mostrado, tanto con estudios neurofarmacológicos como por lesión de vías específicas, la no participación de este neurotransmisor en el substrato neuroquímico de la autoestimulación en este área cortical (Ramirez et al., 1983).

En este mismo trabajo, se ha demostrado que la deplección cerebral de serotonina, producida por la clorofenilalanina, no produce alteración de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Estos resultados sugieren la no participación de la serotonina en la autoestimulación de dicha área del cerebro.

2.4.3.- ACETILCOLINA.

La inervación acetilcolinérgica de la corteza prefrontal proviene del área preóptica lateral y región de la banda diagonal (Shute y Lewis, 1967; Lindvall, 1975; Emson, 1978). Precisamente es la corteza prefrontal, en su división medial, el área del lóbulo frontal que presenta mayor densidad de acetilcolinesterasa, un indicador de la presencia de acetilcolina. Dentro de la corteza prefrontal medial, la acetilcolina se localiza preferentemente en sus capas profundas (Shute y Lewis, 1967) (ver fig. 8).

Los estudios realizados por Vives y Mora (1986) sugieren una acción inhibitoria de la acetilcolina en

el proceso de autoestimulación de la corteza prefrontal medial, mediada fundamentalmente por la actividad de los receptores colinérgicos muscarínicos. Así, estos autores han mostrado que la inyección sistémica de antagonistas muscarínicos (escopolamina y fisostigmina) y de agonistas muscarínicos (pilocarpina) produce una atenuación de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Por el contrario, ninguno de los fármacos nicotínicos utilizados (nicotina y mecamilamina) muestran efectos específicos sobre la autoestimulación.

2.4.4.- PEPTIDOS NEUROTRANSMISORES.

El hallazgo de la existencia en la corteza frontal de una serie de péptidos activos, fundamentalmente colecistoquinina y sustancia P, así como receptores opiáceos, neurotensina y neurofisina A, ha abierto un nuevo campo en relación con el substrato neuroquímico de la autoestimulación cerebral.

Un primer estudio acerca de los efectos de sustancias opiáceas sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal, fue realizado por Lorens (1976). Este estudio mostró que tras la inyección sistémica de morfina se produce un efecto inhibitorio no específico (impedimento motor) seguido de una facilitación que este autor atribuye al efecto directo de la morfina sobre el substrato neural de la autoestimulación en este área cerebral. Estudios posteriores realizados por Shaw et al., utilizando inyecciones intraventriculares de morfina, tienden a confirmar los resultados de Lorens. Estos autores también han descrito que la inyección intracerebral de mor-

fina, en la propia corteza prefrontal medial, no -
 tiene efectos en la autoestimulación de dicha área
 cortical (Shaw et al., 1984). Estos resultados su-
 gieren que la facilitación de la autoestimulación -
 producida por la morfina, no se debe a la actuación
 de ésta a nivel de la corteza prefrontal medial, si
 no posiblemente a la actuación sobre las neuronas -
 del área ventrosegmental que proveen a su vez de do
 pamina a la corteza prefrontal.

Por otra parte, se ha descrito la presencia en
 la corteza prefrontal de colecistoquinina, substan-
 cia P y, más recientemente, neurotensina y neurofisi-
 na A. No obstante, son pocos los trabajos que han -
 correlacionado estos péptidos con la autoestimula-
 ción en la corteza prefrontal.

La sustancia P, un endecapéptido aislado por
 Von Euler y Gaddum en extratos de intestino equino,
 presenta su máxima concentración intracerebral en -
 las capas profundas (V - VI) de la corteza prefron-
 tal (Emson, 1978). Este área cortical es la única -
 del neocortex que presenta sustancia P (Cuello y -
 Kanazawa, 1978). Por otra parte, el origen de la -
 sustancia P prefrontal no es bien conocido, sugi-
 riéndose un origen múltiple a nivel del tronco del
 encéfalo (Paxinos et al., 1978; Sakanaka et al., -
 1983).

Estudios realizados en este laboratorio -
 (Ferrer, 1984) han mostrado que inyecciones intra-
 ventriculares o intracerebrales de sustancia P pro-
 ducen una atenuación dosis-relacionada de la autoes-
 timulación en la corteza prefrontal medial. Por -
 otra parte, inyecciones de sustancia P realizadas
 en el área ventrosegmental mesencefálica (estructu-

ra origen de la dopamina prefrontal) no modifican la autoestimulación en la corteza prefrontal medial (Ferrer et al., 1984). Estos últimos resultados apoyan la interpretación de una posible acción selectiva y directa de la sustancia P sobre el proceso de autoestimulación en dicha área cortical.

3.- RESUMEN Y PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION PRESENTADA EN ESTA TESIS DE LICENCIATURA.

El propósito de la presente investigación fue - realizar un estudio sobre la participación de vías - eferentes, en el substrato neural de la autoestimula- ción en la corteza prefrontal medial de la rata.

Con este fin, se escogieron las técnicas idó- - neas que permitieron llevar a cabo la investigación propuesta. Estas técnicas, descritas ampliamente en la sección de Material y Métodos, incluyeron:

- 1.- Técnicas de estimulación eléctrica del cere- bro.
- 2.- Técnicas de microinyección intracerebral.
- 3.- Técnicas de lesión electrolítica y neurotó- xica de estructuras cerebrales.
- 4.- Análisis del proceso de autoestimulación.
- 5.- Estudio y registro de la actividad motora - espontánea.
- 6.- Estudio y registro de la actividad motora - operacional.
- 7.- Técnicas histológicas.

Los experimentos realizados que se describen en la sección de Resultados, se engloban bajo los si- - guientes títulos:

- 1.- Efectos de la lesión neurotóxica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal -

medial.

- 2.- Efectos de la lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal -- medial.
- 3.- Abolición de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial tras la lesión electrolítica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustró.
- 4.- Mantenimiento de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial tras la lesión neurotóxica bilateral de la porción insular de sulcal y claustró.
- 5.- Efectos de la lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal medial.

En relación a las bases neuroanatómicas de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial, se ha descrito la participación de múltiples vías y circuitos (Mora y Ferrer, 1986). Así, parecen estar implicadas en este proceso las aferencias dopaminérgicas originadas en el área ventro tegmental del mesencéfalo -- (Phillips y Fibiger, 1978; Morales, 1982) y las aferencias procedentes del núcleo dorsomedial del tálamo (Vives et al., 1986). Otras vías y circuitos han sido recientemente propuestos por Mora y Ferrer (1986).

En relación a las eferencias, Corbett et al. --- han descrito, recientemente, que la sección bilateral

de las fibras existentes entre la corteza prefrontal medial y sulcal, produce una abolición de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Es interesante que, la corteza prefrontal medial envía un grueso contingente de axones a neuronas de la corteza prefrontal sulcal ipsi y contralateral (Beckstead 1979). Estos datos sugieren la posibilidad de que sea la sección de estos axones la responsable de la abolición de la autoestimulación obtenida por Corbett et al. (1982).

Con el objeto de confirmar o descartar esta hipótesis, se realizó el 1º bloque de experimentos que consistió en la microinyección bilateral de ácido kaínico en la corteza prefrontal sulcal (labio superior del surco rinal). El ácido kaínico es una neurotoxina que, a las dosis empleadas, destruye selectivamente cuerpos neuronales respetando las fibras de paso (Schwartz et al., 1980). Es evidente que la destrucción de las neuronas de la corteza prefrontal sulcal sobre las que sinapsan los axones provenientes de la corteza prefrontal medial, debiera dar lugar a resultados idénticos a los obtenidos por Corbett et al. Tras la inyección, sin embargo, no se observaron modificaciones significativas de la autoestimulación, a pesar de que el estudio histológico realizado mostró claramente la destrucción de las neuronas del labio superior del surco rinal (invasión glial y núcleos pignóticos). Estos resultados, por tanto, descartan la participación de las neuro-

nas intrínsecas al labio superior del surco rinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata.

Los resultados obtenidos en el 1º bloque de experimentos sugieren que la abolición de la autoestimulación obtenida por Corbett et al. (1982), puede ser debida a la lesión de fibras que, originándose en la corteza prefrontal medial atraviesan la corteza prefrontal sulcal sin realizar sinapsis con neuronas de esta última estructura.

Con el objeto de confirmar esta segunda hipótesis, se realizó una lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal dado que no se dispone actualmente de una neurotoxina que destruya selectivamente fibras no monoaminérgicas. Tampoco tras la lesión electrolítica se observaron modificaciones significativas de la autoestimulación. El estudio histológico reveló que la lesión afectaba fundamentalmente a los planos anteriores de la corteza prefrontal sulcal, salvando parte de la porción insular. Sin embargo, en una rata, la lesión fue más posterior y más medial que la del resto del grupo, afectando a la porción insular de la corteza prefrontal sulcal, así como a claustro. Precisamente, en esta rata, se observó una abolición mantenida de la autoestimulación que no se acompañó de modificaciones significativas de la actividad motora espontánea.

El hecho de que tanto la porción insular de la corteza prefrontal sulcal como el claustró mantienen, igualmente, conexiones reciprocas con la corteza prefrontal medial (Beckstead, 1979; Divac, 1978; Dalsass, 1981; Vives et al., 1983), sugiere la posibilidad de que estas dos estructuras, situadas en planos más mediales y posteriores, sean las responsables de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial.

El 3º bloque de experimentos de esta tesis de Licenciatura se diseñó para dilucidar tal hipótesis. Para ello, se realizó la lesión electrolítica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustró. Se utilizó como control una conducta motora operacional similar a la que realiza el animal para la obtención de autoestimulación cerebral. Los resultados de este 3º bloque de experimentos mostraron una abolición mantenida de la autoestimulación que no se acompañó de modificaciones significativas de la actividad motora operacional. Esto sugiere que, neuronas de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y/o claustró, o bien - fibras de paso a través de estas estructuras, forman parte del substrato neural de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata.

El 4º bloque de experimentos consistió en la inyección de kaínico, y también de iboténico, en la porción insular sulcal y claustró, con la finalidad

dad de dilucidar si son neuronas intrínsecas a estas estructuras o fibras de paso, las responsables de la abolición de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Igualmente, se utilizó como control una conducta operacional similar a la de la autoestimulación cerebral. Tras la microinyección de ácido kaínico o iboténico, no se observaron modificaciones significativas de la autoestimulación.

Estos resultados descartan la participación de las neuronas intrínsecas a la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustró en la autoestimulación, y sugieren que son fibras de paso a través de estas estructuras, las responsables de los efectos obtenidos.

Beckstead (1979) ha señalado la existencia de una vía eferente que, originada en la corteza prefrontal medial, atraviesa la porción insular de la corteza prefrontal sulcal, dirigiéndose caudalmente hasta la corteza entorrinal. El objetivo del 5º y último experimento fue, por tanto, dilucidar la participación de la vía prefronto-entorrinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Para ello, se realizó una lesión electrolítica de la corteza entorrinal.

MATERIAL Y METODOS

B.1.- MÉTODOS GENERALES.

1.- ANIMALES.

Los animales utilizados en los experimentos presentados en esta Tesis de Licenciatura fueron ratas adultas machos de un peso comprendido entre 250 y 320 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 - 25ª C. La comida y bebida fué suministrada "ad libitum".

2.- MATERIAL Y PROCEDIMIENTOS.

2.1.- REALIZACION DE IMPLANTES CEREBRALES.

En los procesos de estimulación eléctrica y química cerebral, han sido realizados dos tipos de implantes: electrodos y quemitrodos (cánulas más electrodos). Seguidamente se detallan el material y procedimientos empleados en cada uno de ellos.

2.1.1.- ELECTRODOS.

El material utilizado en la construcción de los implantes con electrodos monopolares es el siguiente:

- alfileres entomológicos inoxidables de 0,25 m.m. de diámetro.
- armazón de polivinilo aislante Amphenol.
- barniz tixotrópico. Blundell-Permoglaze Ltd.
- conectores hembras Amphenol 220 - SO2.
- resina Araldit. Ciba - Geigy.

En la construcción de un implante de electrodos se procedió de la siguiente manera: Los electrodos - se obtuvieron de dos alfileres entomológicos los cuales fueron doblados dos veces en ángulo recto. Estos electrodos se introdujeron y se unieron por presión en ambos conectores hembra. Un tercer conector se - unió mediante estaño a un cable fino de acero inoxidable y fué utilizado como polo de referencia (tierra). Los tres conectores se introdujeron en un armazón de polivinilo aislante (un ejemplo de implante -

con electrodos puede observarse en la Fig. 9).

La longitud y separación de los electrodos varía en función del área cerebral en la que son implantados. Los electrodos implantados en la corteza prefrontal medial presentaron una longitud de 5 mm. y una separación de 1,6 mm. Una vez reguladas estas medidas, se aseguraron colocando una gota de Araldit en la base del armazón de polivinilo aislante.

Seguidamente los electrodos fueron recubiertos con dos capas de barniz tixotrópico aislante. Una vez secado éste, se puso al descubierto la punta de los electrodos en una longitud de 0,3 mm. siendo ésta la única zona del electrodo que permite el paso de corriente al tejido cerebral. El electrodo se consideró correctamente aislado cuando, al utilizarlo como cátodo en una cuba electrolítica, la formación de hidrógeno ocurrió exclusivamente en la porción descubierta del mismo.

2.1.2.- QUEMITRODOS.

Consiste en una preparación de electrodos y cánulas para estimulación eléctrica y química cerebral separada o simultáneamente.

El material utilizado en este tipo de implantes es el mencionado en el apartado 2.1.1. más cánulas de acero inoxidable de 23 ga. y 28 ga. de diámetro externo e interno respectivamente, y una longitud de 10 mm.

La distancia que separa los electrodos de las cánulas varía en función del área cerebral en la que

son implantadas dichas cánulas. Los quemitrodos empleados en esta Tesis de Licenciatura constan de electrodos para implantar en la corteza prefrontal medial y cánulas para implantar en la corteza prefrontal sulcal (surco rinal) en el 1º caso o en la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustro en el 2º caso.

El procedimiento de realización fué el siguiente: una vez realizado un implante de electrodos como el señalado en el apartado 2.1.1. se le aplican las cánulas mediante resina plástica Perfex de manera que queden paralelas a los electrodos, 2,1 mm. laterales a éstos y 1mm. por encima de la punta de los electrodos cuando las cánulas se implantan en el surco rinal (un ejemplo de quemitrodo puede apreciarse en la Fig. 11). Si las cánulas se implantan en la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustro, deben quedar paralelas a los electrodos, 2,2 mm. laterales a éstos, 1 mm. posteriores y 1 mm. por encima de la punta de los electrodos.

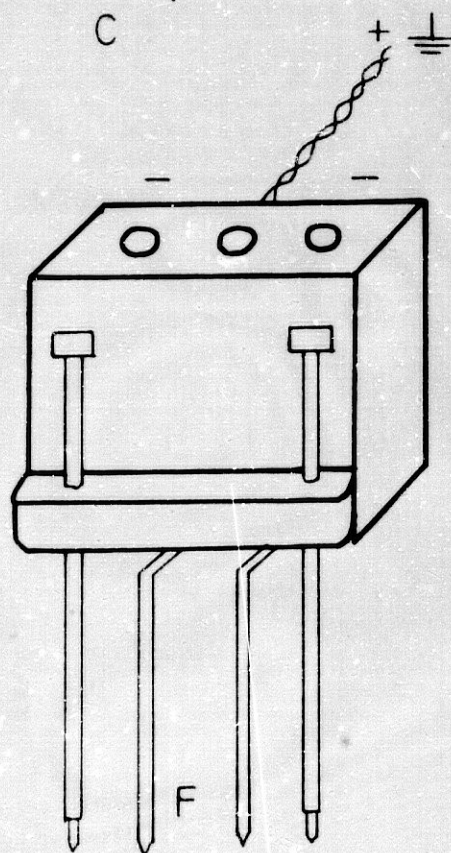
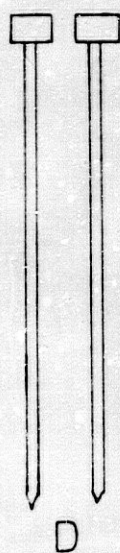
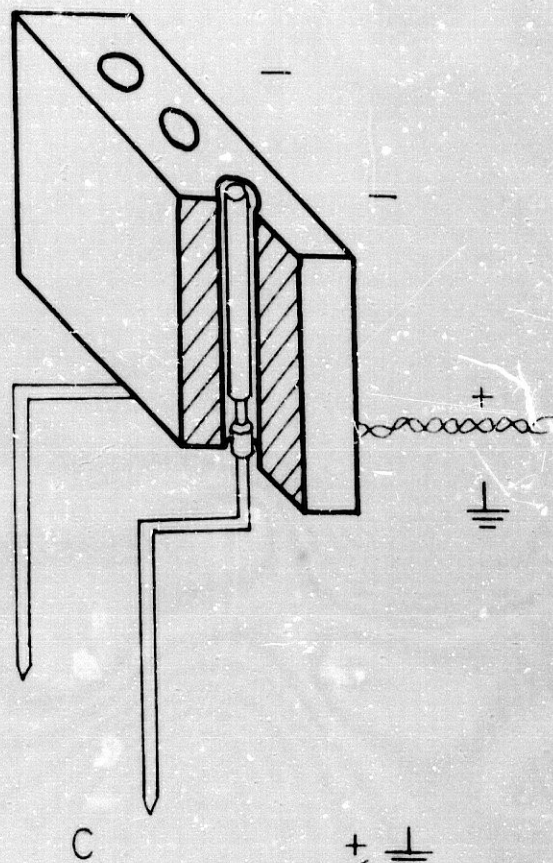
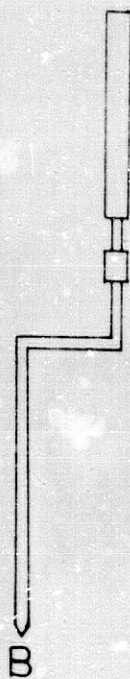
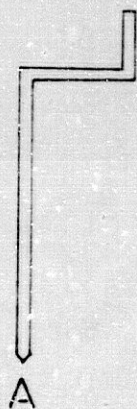
Cada cánula del quemitrodo llevó un fiador de acero inoxidable de 28 ga. de diámetro y 10,3 mm. de longitud.

Figura 9 A.

Implante de electrodos. A: Electrodo. B: Electrodo unido al conector. C: Conectores y electrodos en un 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. La sección muestra la situación del conector en el armazón de polivinilo aislante.

Figura 9 B.

Implante de electrodos y cánulas (quemitrodo). D: Fiadores. E: Cánulas. F: Las cánulas se han adosado mediante cemento plástico dental a un implante de electrodos.



2.2.- PROCEDIMIENTO QUIRURGICO: ESTEREOTAXIA.

El material utilizado en la implantación estereotáctica de electrodos y cánulas fue el siguiente:

Productos químicos:

- Etanol. Merck
- Hidrato de cloral. Merck.
- Pentobarbital sódico. Serva.
- 1, 2 - Propilenglicol. Merck.
- Sulfato Magnésico. Merck.

Instrumentos y aparatos:

- Bisturí (1)
- Esterotáxico para roedores. David Kopf - instruments 900.
- Fresas de corona esférica de 1,7 mm. de diámetro.
- Motor portafresas. Casali DSE - 47.
- Pinzas hemostáticas (4).
- Pinzas rectas (1).
- Resina plástica Perfex. International - Dental Products.
- Spongostan Film. Ferrosen Danmark.
- Tornillos de tapa Micro - 57.

El material utilizado se esterilizó previamente a su utilización en una cámara pupinel o en autoclave.

El procedimiento de implantación de electrodos fué el siguiente:

Las ratas fueron pesadas y anestesiadas posteriormente con equithesin. Este producto se preparó con los siguientes compuestos y en el orden que se citan:

- 21,25 grs. de hidrato de cloral se disuelve--

ron en 49,4 ml de etanol absoluto. Posteriormente se añade:

- 4,86 grs. de pentobarbital sódico en 81 ml. - de agua bidestilada.
- 198 ml. de 1,2 - propilenglicol.
- 10,63 grs. de sulfato magnésico en 50 ml. de agua bidestilada.
- agua bidestilada c.p.s. 500 ml.

El equithesin se administró por vía intraperitoneal a la dosis de 2ml/kg de peso. Una vez que el animal estuvo profundamente anestesiado, se colocó en un estereotáxico para roedores David Kopf 900. En él, el cráneo de la rata se fijó introduciendo en ambos conductos auditivos externos sendos ejes, y pinchando el maxilar superior en posición adecuada. Con estas maniobras, el cráneo queda perfectamente fijado en los planos horizontal y vertical. Posteriormente se pasó a descubrir la calota mediante una incisión longitudinal de la piel que la cubre. Con pinzas hemostáticas se separaron ambas mitades cutáneas; seguidamente se despegó el periostio y se hemostasiaron con Spongostan las pequeñas hemorragias producidas en esta maniobra. Una vez expuesta la calota, se señaló sobre su superficie con lápiz el punto bregma. Este fué utilizado como referencia en la obtención de la coordenada esterotáxica anteroposterior. En el caso de la corteza prefrontal medial y según el atlas de Köning y Klippel (1967), las coordenadas esterotáxicas fueron: 3,7 mm. anterior a bregma, 0,8 mm. lateral a la línea media y 2,8 mm. de profundidad - por debajo de la duramadre. Una vez señalado bregma, se situó el extremo del electrodo derecho sobre dicho punto. Seguidamente, se desplazó 0,8 mm. lateral y 3,7 mm. anterior respecto de bregma. Con lápiz se

marcaron en el hueso los dos puntos por donde serían introducidos los electrodos. Seguidamente se señalaron tres puntos en los que se emplazaron sendos tornillos de fijación Micro - 57, de manera que no interfirieran con los electrodos ni con el armazón de polivinilo.

Con una fresa de corona esférica aplicada a un motor portafresas Casali DSE - 47, se abrieron los orificios marcados previamente para los electrodos, perforando la calota hasta dejar expuesta la duramadre.

Se tomaron de nuevo las coordenadas estereotáxicas anteroposterior y lateral, situándose los electrodos sobre los orificios previamente trepanados en la calota. Seguidamente, se bajaron los electrodos hasta tocar la duramadre. A partir de este punto, se introdujeron en el cerebro a la profundidad determinada. De esta forma los electrodos se situaron en el área cerebral deseada. El cable, que se utilizó como tierra, se fijó a los tres tornillos previamente implantados en la calota.

Tras esto, se fijó el implante a la calota con resina plástica Perfex. Esta englobó también a la tierra y a los tornillos de fijación. Fraguada la resina, se retiraron las pinzas hemostáticas y la piel cubrió la porción inferior del implante. En las fotografías 1, 2, 3 se presentan secuencialmente tres momentos de la operación antes descrita.

Finalizada la operación el animal fué devuelto a su jaula, manteniéndose una vigilancia de la ingesta de bebida y comida durante las 24 horas siguientes. Durante la primera semana del postoperatorio,

se administraron diariamente 60.000 u.i. de penicilina G sódica s.c. a cada animal.

En las preparaciones en las que se iba a lesionar electrolíticamente una estructura cerebral, previo a la implantación de los electrodos, se señalaron bilateralmente los puntos estereotáxicos anteroposterior y lateral de dichas estructuras en la superficie de la calota. Posteriormente se emplazaron en dichos puntos sendos tornillos de señalización. Seguidamente, se procedió como ha sido referido anteriormente. En el proceso de fijación del implante con el cemento plástico se evitó que éste cubriera los tornillos de señalización; para ello, se situó una anilla de plástico alrededor de los mismos.

En la implantación de los quemitrodos, el procedimiento fué el mismo que el descrito para el implante de electrodos. A excepción de que los orificios realizados en la calota para permitir el paso de quemitrodos son mayores que cuando se implanta electrodos exclusivamente.

FOTOGRAFIAS 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

La fotografía 1 muestra la fijación de la cabeza de la rata en el estereotáxico mediante las dos barras auriculares y la sujeción del maxilar superior.

La fotografía 2 muestra un detalle de la calota de la rata. O: punto bregma, usado como referencia de las coordenadas estereotáxicas.

Las fotografías 3 y 4 muestran, en una visión craneal y lateral respectivamente, un implante de electrodos en corteza prefrontal medial y tornillos (T) de señalización en CPS, a los 30 días de la intervención.

Las fotografías 5 y 6 muestran, en una visión craneal y lateral respectivamente, un implante de electrodos (E) en la corteza prefrontal medial y cánulas (C) en la porción insular de CPS y claustro.

FOTOGRAFIA 1

FOTOGRAFIA 2

FOTOGRAFIA 3

FOTOGRAFIA 4

FOTOGRAFIA 5

FOTOGRAFIA 6

3.- MÉTODOS EXPERIMENTALES.

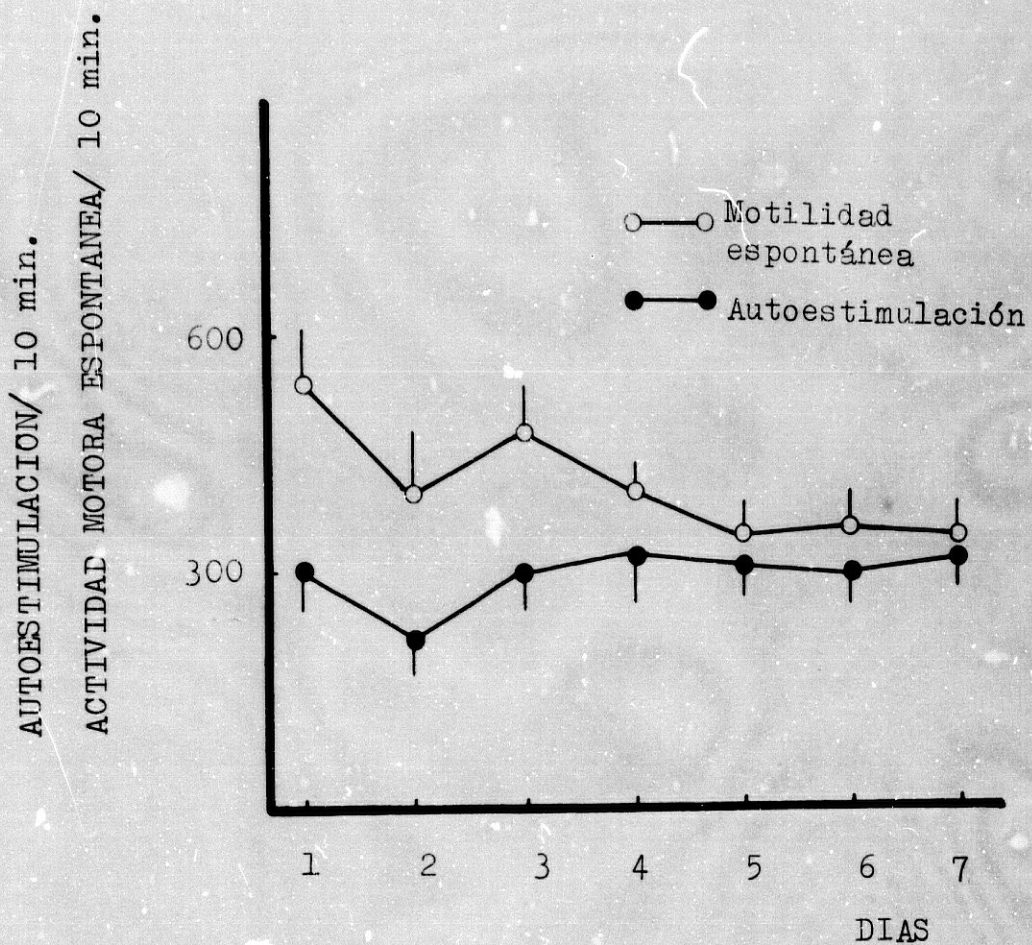
3.1.- REGISTRO DE LA ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA.

El material empleado en el estudio de la motilidad espontánea ha sido el siguiente:

- Actímetro. Letica LI 300 (2).
- Caja de experimentación. Letica 26 x 29 x 36 cm. 830 (2).

La caja de experimentación utilizada presenta - un suelo formado por una serie de varillas metálicas conectadas individualmente a un actímetro de cuatro canales Letica LI 300. Entre uno y otro canal se encuentra una varilla metálica conectada a tierra. Los desplazamientos de la rata hacen que se vaya cerrando el circuito entre tierra y uno de los canales (1, 2, 3 ó 4). Cada contacto manda un pulso que es registrado por un contador adaptado al actímetro (Letica timer - module).

Los primeros registros de la motilidad de los - animales suelen mostrar una gran fluctuación estadística. En los días siguientes, esta fluctuación en - los resultados va disminuyendo hasta hacerse estadísticamente no significativa. En este momento, la tasa de motilidad se considera estabilizada, iniciándose el experimento (gráfica 1). Una vez estabilizada la tasa de motilidad en los animales de un experimento dado, éstos fueron introducidos diariamente y a la - misma hora en la caja de experimentación durante 15 minutos. De estos se contabilizaron únicamente los - diez últimos, puesto que el resultado de los 5 min.



GRAFICA 1.

Evolución de la tasa de autoestimulación y actividad motora espontánea a lo largo de 1 semana.

primeros es muy variable debido a los movimientos de exploración de la rata.

3.2.- REGISTRO DE LA ACTIVIDAD MOTORA OPERACIONAL.

El material empleado en el estudio de la conducta operacional, ha sido el siguiente:

- Caja de experimentación. Letica 26 x 29 x 36 cm. LI 830 (1).
- Contador electrico (2).
- Módulo digital. Letica LI 2.300 (1).

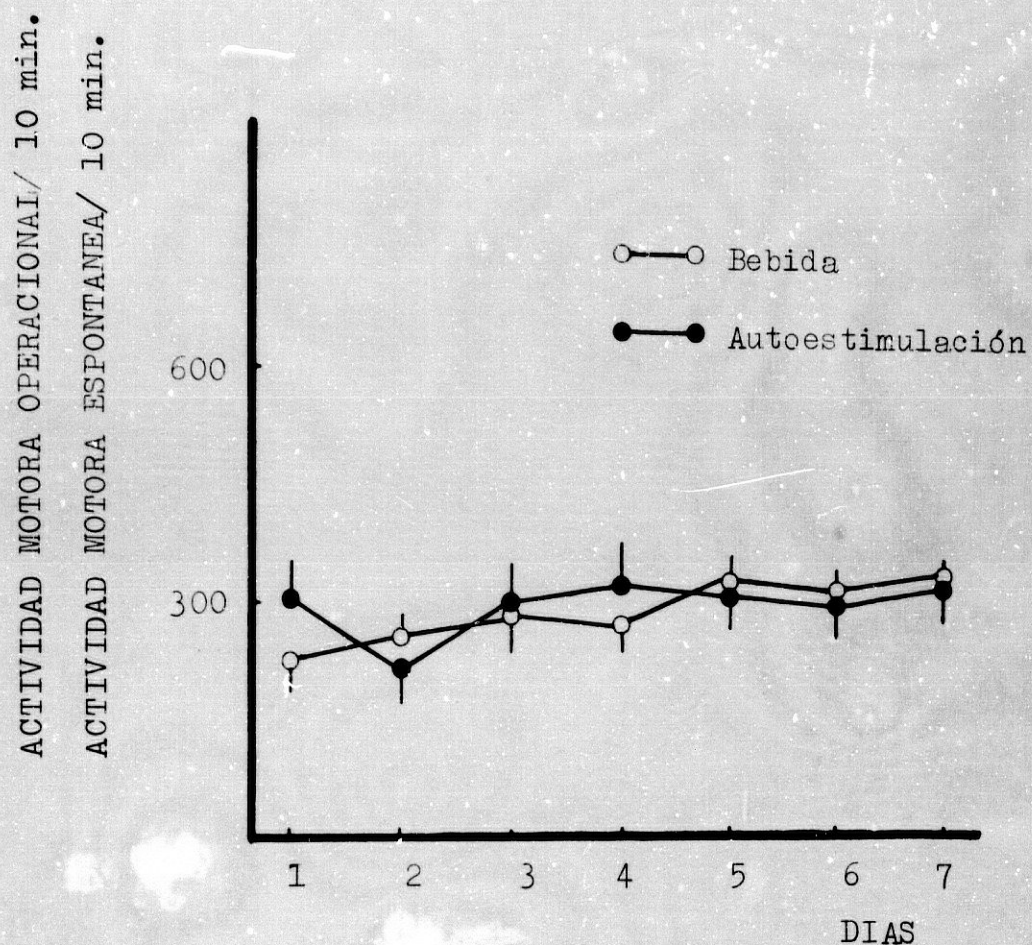
La caja de experimentación utilizada posee una palanca y un mecanismo asociado a ella que hace caer una gota de agua cada vez que la rata presiona (refuerzo).

Para el entrenamiento se siguió el siguiente método: Una semana después de la intervención quirúrgica y tras la completa recuperación del animal, éste se privó de agua durante 23 horas. Posteriormente, la rata se introdujo en la caja de experimentación durante 30 minutos. Tras 2 - 3 días la rata asocia el apretar la palanca con la gota de agua.

Una vez que el animal ha aprendido a darle a la palanca, a través del módulo digital se van controlando el número de presiones de palanca que la rata tiene que dar para obtener el refuerzo. Al comienzo del aprendizaje, a cada palancada cae una gota de agua. Posteriormente se aumenta el número de palancadas hasta obtener una razón aproximada 5: 1 palancada: refuerzo. Con este método se consigue que el animal apriete la palanca en 10 minutos, un número de

veces aproximadamente igual al de la autoestimulación.

Los primeros registros suelen mostrar una mayor fluctuación estadística. En los días siguientes, esta fluctuación en los resultados va disminuyendo hasta hacerse estadísticamente no significativa (ver gráfica 2). Una vez estabilizada la tasa de ingesta de bebida en los animales utilizados, éstos fueron introducidos diariamente y a la misma hora en la caja de experimentación durante 10 min. Una vez finalizado el periodo de 10 minutos, se vuelve a colocar la rata en su jaula y se le permite beber libremente durante 45 minutos. Pasado este tiempo se comienza un nuevo ciclo de 23 horas de deprivación. Durante toda la experimentación los animales disponen de comida "Ad libitum".



GRAFICA 2.

Evolución de la tasa de autoestimulación y actividad motora operacional (bebida), a lo largo de 1 semana.

3.3.- ESTIMULACION ELECTRICA CEREBRAL.

El material utilizado en el proceso de estimulación eléctrica cerebral, ha sido el siguiente:

- Cajas de experimentación. Letica 26 x 29 x 36 cm. LI 830 (2).
- Contador eléctrico (4).
- Estimulador Cibertec, mod. CS - 220 A (2).
- Estimulador Letica LI 12.000.
- Módulo digital. Letica LI 2.300 (3).
- Osciloscopio. Telequipment D 61A.

La estimulación eléctrica del cerebro consistió en un tren de ondas cuadradas monofásicas negativas de 0,3 segundos de duración, 0,5 mseg. de duración del pulso y una frecuencia de 100 hz. generado por un estimulador eléctrico. La intensidad del estímulo es constante para cada rata, pero variable de un animal a otro. Para conocer la intensidad aplicada, se utilizó la ley de Ohm $I = V/R$. V se conoció por medio del osciloscopio, y la impedancia R fue la de una resistencia conectada en serie con el circuito. En los experimentos realizados, las intensidades se hallaron entre 200 y 600 μA .

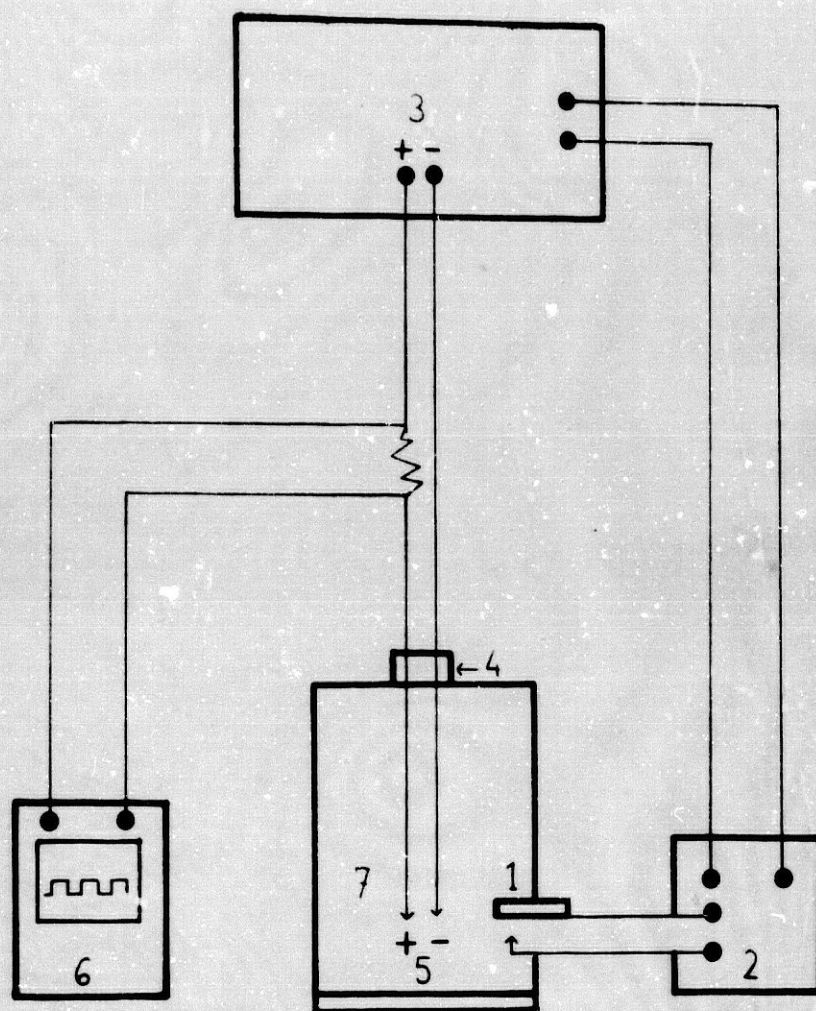
Esquemáticamente, este circuito funciona de la siguiente manera: cuando la rata aprieta la palanca de la jaula de experimentación, se cierra el circuito del temporizador adosado al módulo digital; este da una señal de 0,3 seg. de duración al estimulador, el cual origina una corriente pulsante regulable que es observada por el osciloscopio. El número de palancadas que da el animal es registrado numéricamente por el contador aplicado al sistema. 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. Un ejemplo del sistema de autoestimulación puede verse en el esquema 1.

3.3.1.- OBTENCION DE AUTOESTIMULACION CEREBRAL.

Una semana después de la intervención quirúrgica y tras la completa recuperación del animal, éste se introdujo en la caja de experimentación por primera vez y se conectaron 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. El periodo de aprendizaje comprendió sesiones de una mañana y tarde de 30 min. de duración, realizados diariamente. Estas sesiones se repitieron hasta que el animal apretó espontáneamente la palanca para obtener estimulación de su cerebro.

Una vez obtenida una conducta persistente y reproducible de autoestimulación, se realizó una curva de intensidad-respuesta. Esta consiste en determinar la variación de la tasa (frecuencia) de autoestimulación, en función de la intensidad del estímulo. Se utiliza un rango de intensidades comprendido entre 100 y 600 μ A. En cada intensidad se mide la tasa de autoestimulación durante dos minutos. En primer lu-



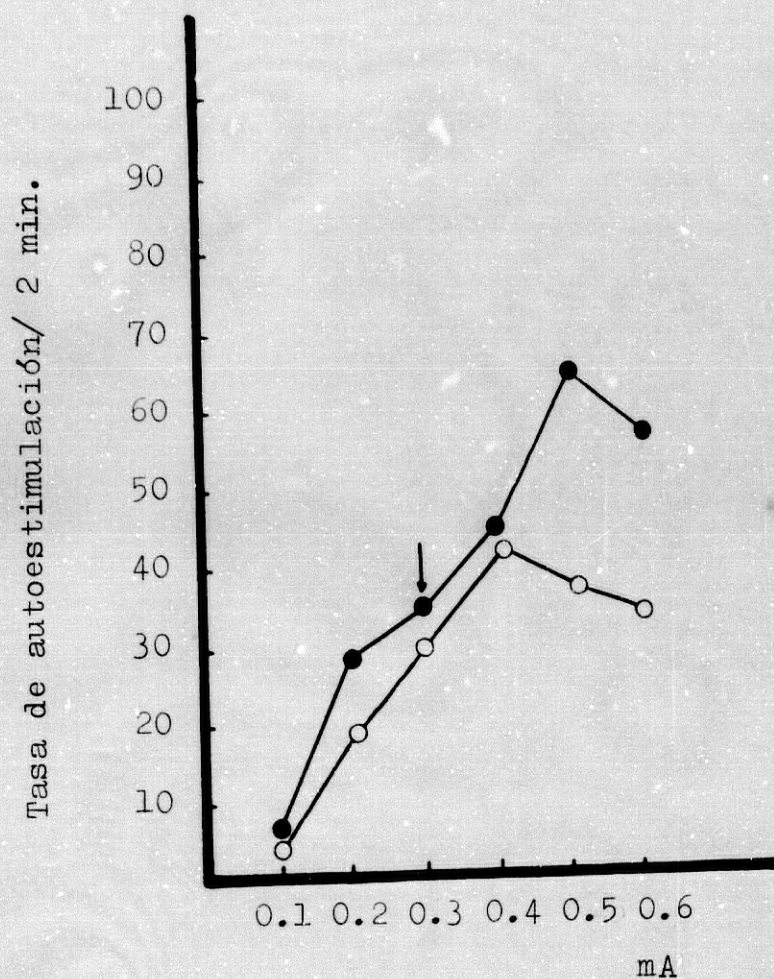
ESQUEMA 1.

Representación del circuito de estimulación eléctrica. 1: Palanca de autoestimulación que cierra el circuito del temporizador. 2: Módulo digital y temporizador que envía una 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 experimentación.

gar las intensidades se presentan en sentido creciente, de 100 a 600 μ A, y tras 20 min. se repite el proceso en sentido inverso.

Con este procedimiento, se determina la intensidad umbral, la intensidad que presenta la tasa más alta, así como la intensidad en la cual el animal muestra reacciones motoras. La intensidad elegida para los experimentos es aquella que está por encima del umbral, que no origina la mayor tasa de respuesta y que permite una reproducibilidad de la autoestimulación sin producir efectos motores o crisis convulsivas. Un ejemplo de curva intensidad - respuesta se muestra en la gráfica 3.

Elegida la intensidad idónea para cada rata, se inició un periodo de estabilización de la tasa de autoestimulación similar al realizado con la motilidad espontánea y la ingesta de bebida (ver gráficas 1 y 2). Cuando la autoestimulación estuvo estabilizada, se iniciaron los experimentos.



GRAFICA 3.

Ejemplo de curva de intensidad-respuesta. En --
 círculos abiertos se representa la curva registrada
 tras la aplicación en sentido creciente del rango de
 intensidades empleado (0.1-0.6 mA). En círculos ce--
 rrados se muestra la curva obtenida en sentido decre--
 ciente (0.6-0.1 mA). La intensidad elegida en este --
 caso fué 0.3 mA.

3.4.- LESION DE ESTRUCTURAS CEREBRALES.

3.4.1.- LESION NEUROQUIMICA.

El material utilizado en la lesión neuroquímica fué el siguiente:

- bomba de infusión. Hardward apparatus 940-A.
- cánulas de acero inoxidable de 28 ga. de diámetro externo.
- jeringa de 10 μ l Hamilton.
- tubo flexible de polietileno PE - 10. Intramedic Clay Adams.

Los agentes neurotóxicos empleados para producir la lesión neuroquímica cerebral han sido el ac. Kaínico y el ac. iboténico. Ambos fueron disueltos en una solución acuosa estéril tamponada con buffer fosfato a un pH 7,4. La concentración de ácido kaínico utilizada fué 10 nm/ μ l. El volumen administrado osciló de 0,6 - 0,8 μ l dependiendo del área lesionada. - El ácido iboténico se inyectó a dosis de 6 ng/ μ l y - el volumen administrado fué de 0,8 μ l.

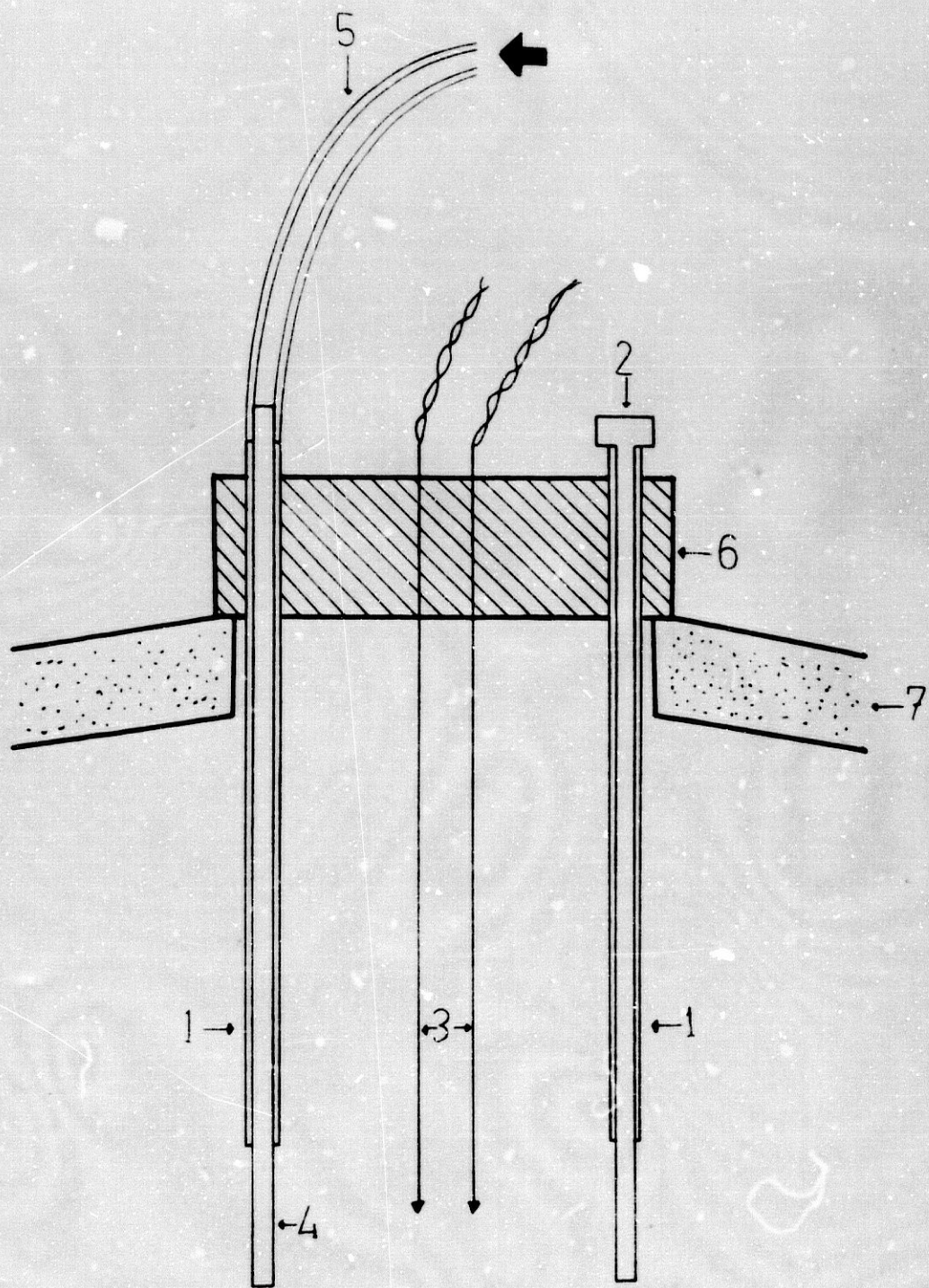
El sistema de microinyección intracerebral utilizado se compone de una cánula inyectora de 28 ga. de diámetro y 12 mm. de longitud, conectada por medio de un tubo de polietileno PE - 10 a una jeringa Hamilton (10 μ l), la cual va colocada en una bomba de infusión Hardward 940 - A (ver esquema 2).

La microinyección de fármacos se realizó de la siguiente manera: se retiró el fijador de la cánula - guía (implante descrito en el apartado 2.1.2.) En ésta se introdujo la cánula inyectora en toda su longitud.

ESQUEMA 2.

Representación de la preparación empleada en la administración intracerebral. Quemitrodo (1,2,3) y sistema de microinyección (4 y 5).

1: Cánula guía. 2: Fiedor. 3: Electrodo estimulador. 4: Cánula inyectora. 5: Tubo de polietileno - que va unido a la bomba de infusión mediante una microjeringa. 6: Cemento acrílico. 7: Calota de la rata.



1 mm

tud. Seguidamente se inyectó el volumen adecuado de ac. kaínico o iboténico en un tiempo de 1 minuto. Finalizando éste, se esperan 2 min. antes de retirar la cánula inyectora con objeto de permitir la difusión de la droga y posteriormente se levanta la cánula inyectora 1 - 2 mm. y se esperan otros 2 min. antes de retirar la cánula definitivamente. Una vez retirada, se colocó inmediatamente el fiador y se introdujo el animal en su jaula.

3.4.2.- LESION ELECTROLITICA.

En la realización de la lesión electrolítica de estructuras cerebrales, se ha utilizado el siguiente material:

- alfiler entomológico de acero inoxidable de 0,4 mm. de diámetro.
- amperímetro. Supertester ICE 680 R.
- estereotáxico para roedores. David Kopf instruments Mod. 900.
- resina plástica. Perfex International Dental Products.

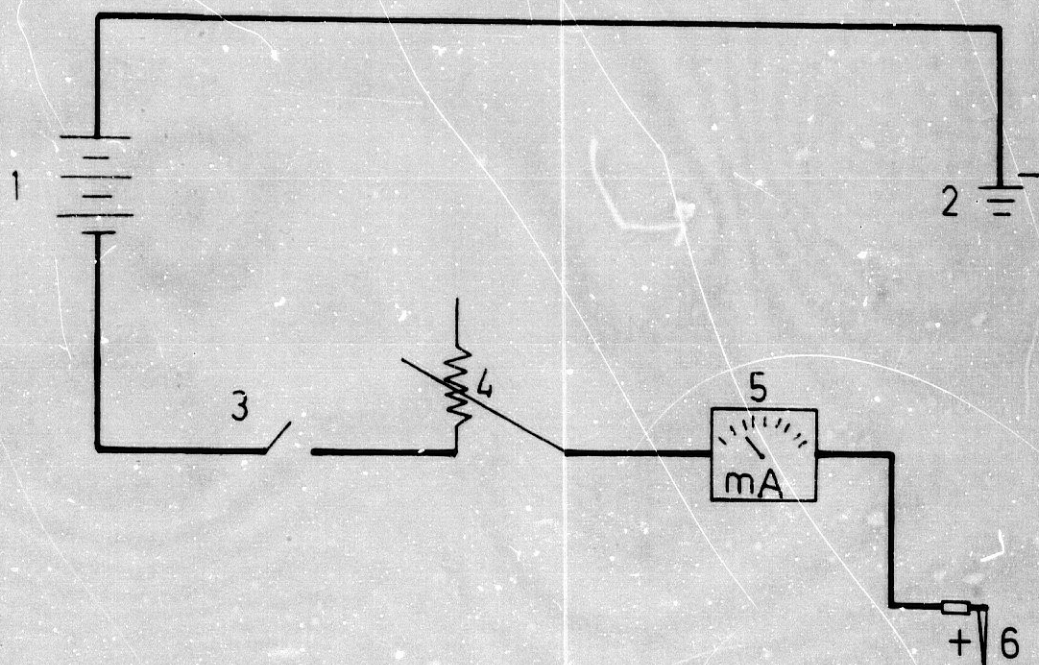
Para la lesión electrolítica de una estructura cerebral se utiliza un electrodo monopolar de acero inoxidable aislado con barniz tixotrópico a excepción de una determinada longitud en su extremo. Este electrodo se obtiene de un alfiler entomológico de 0,4 mm. de diámetro.

El procedimiento fué el siguiente: los animales fueron anestesiados y colocados en el estereotáxico como previamente ha sido descrito. Hecho esto, se re

tiraron los tornillos de señalización y se procedió a introducir estereotáxicamente el electrodo en el área interesada. Posteriormente se pasó a través del electrodo una corriente eléctrica continua, anódica a una intensidad y durante un tiempo determinados. - Estos dos parámetros, así como la porción no aislada del electrodo, dependieron del tamaño de la lesión deseada.

La intensidad fué monitorizada mediante un amperímetro. El circuito se cerró uniendo el polo positivo a la piel próxima a la base de cola del animal. - (el circuito puede observarse en el esquema 3).

Terminada la lesión electrolítica, se retiró el electrodo y se cerró el orificio de la calota con resina Perfex. Finalizada la operación el animal fué devuelto a su jaula.



ESQUEMA 3.

Circuito utilizado para la lesión electrolítica.
 1: Batería. 2: Polo negativo (neutro) conectado a la cola del animal. 3: Interruptor. 4: Resistencia variable, para ajustar la intensidad. 5: Miliamperímetro. 6: Electrodo monopolar conectado al polo positivo.

4.- HISTOLOGIA.

El material empleado en el estudio histológico de las piezas cerebrales fué el siguiente:

Substancias químicas:

- Cl Na. Merck.
- Etanol absoluto. Merck.
- Eukitt. Maison Kindler.
- Formaldehído 30 %. Merck.
- Violeta de cresilo. Merck.
- Xilol. Merck.

Aparatos:

- Cámara fotográfica. Olympus C - 35 AD.
- Microscopio binocular. Reichert Austria Nr - 449619.
- Microscopio fotográfico. Olympus BH - 2.
- Microtomo de congelación. Reichert Austria Nr 333337.
- Unidad de control de la exposición automática Olympus PM - CBAD.

Al finalizar los experimentos todos los animales fueron anestesiados con equithesin (2ml/Kg). A continuación, los animales fueron perfundidos con solución salina (Cl Na 0,9 %) heparinizada al 1 %, seguida de una solución de formaldehído al 10%. Terminada la perfusión se extrajeron los cerebros y se colocaron en un microtomo de congelación Reichert. En éste los cerebros se cortaron en secciones de 25 μ . Las secciones fueron teñidas mediante una modificación del método Klüver y Barrera (1953), en la que se utilizó como colorante el cresil violeta.

Para esta técnica se preparan las siguientes so

luciones:

- Etanol absoluto.
- Etanol al 95 %.
- Violeta de Kresilo al 1%. Se le añaden unas gotas de ácido acético glacial al 1 %.
- Xilol.

El procedimiento de tinción fué el siguiente:

- 1º Hidratar en etanol al 95 %.
- 2º Aclarar en agua bidestilada.
- 3º Mantener la preparación 30 seg. en la solución de cresil violeta, a un pH de 3,59. La solución es previamente filtrada y calentada a 57º C.
- 4º Diferenciar 3 veces en etanol de 95 %.
- 5º Deshidratar 2 veces en etanol absoluto.
- 6º Limpiar en xilol 2 veces.
- 7º Montar en Eukitt.

Al finalizar la tinción, las células aparecen teñidas de un color rosado - violeta y las fibras quedan libres de tinción.

La localización de las estructuras cerebrales se realizó mediante un microscopio binocular Reichert. El atlas estereotámico de Köning y Klippel (1967) se utilizó como texto de referencia.

Las muestras fotográficas de los cortes histológicos fueron realizadas utilizando el sistema de microfotografía de exposición automática Olympus PM - CBAD.

5.- ESTADISTICA.

Los métodos estadísticos empleados han sido: -
análisis de la varianza doble con un solo elemento -
por casilla y posterior aplicación del test de Dun--
nett.

5.1.- ANALISIS DE LA VARIANZA DOBLE CON UN SOLO ELE- MENTO POR CASILLA.

Sean dos tipos de tratamiento, 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, modali-
dad j del tratamiento B y media general. En las Σ an-
teriores 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 $X_{i1}, X_{i2}, \dots, X_{iq}$ y por columna j a los -
valores $X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{pj}$.

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

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	$F_{exp.}$
Entre filas	$(p-1)$	$S_A^2 = q_i (x_{i.} - x_{..})^2$	$F_A = \frac{S_A^2}{S_{AB}^2} \cdot \frac{(p-1)(q-1)}{(p-1)}$
Entre columnas	$(q-1)$	$S_B^2 = p_j (x_{.j} - x_{..})^2$	$F_B = \frac{S_B^2}{S_{AB}^2} \cdot \frac{(p-1)(q-1)}{(q-1)}$
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:

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

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

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

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

Si $F_A < F_{teor.}$ entonces todas las modalidades del tratamiento A actúan de igual modo.

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

5.2.- TEST DE DUNNETT.

Una vez realizado el análisis de la varianza, - interesó 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 al tamaño del grupo do sis número i . Entonces se calcula la cantidad:

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

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 exclui do el control, se busca en las tablas correspondientes la cantidad teórica $t(K, f, \gamma, \rho)$ donde ρ es el co ciente:

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

γ es la confianza.

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

B.2. DETALLE DE LA METODOLOGIA SEGUIDA EN CADA UNO -
DE LOS EXPERIMENTOS PRESENTADOS EN ESTA TESIS -
DE LICENCIATURA.

EXPERIMENTO 1

En este experimento se utilizaron 12 animales - en los que se implantaron quemitrodos para estimulación eléctrica de la corteza prefrontal medial (CPM) y lesión neuroquímica de la corteza prefrontal sulcal (CPS).

Se inyectó bilateralmente ácido kaínico a la - concentración de 10 ng/ μ l. El volumen inyectado fué de 0.8 μ l. El procedimiento utilizado fué el expresado en el apartado 3.5.1. de esta sección. Tras la inyección se registró, durante 10 min, la autoestimulación y la actividad motora espontánea, en días alternos y durante un período postinyección de 17 días. - Tres días antes de la inyección del ácido kaínico se inyectaron 0.8 μ l del solvente: salino a p^H 7.4 (ClNa 0.9% tamponado con buffer fosfato), registrandose la SS los dos días siguientes.

Las coordenadas estereotáxias de CPM y CPS, obtenidas del atlas de Köning y Klippel, fueron: CPM: 3.7 mm. anterior a bregma, 0.3mm. lateral a la línea media, 2.8mm. de profundidad (+ 3.7, 0.8, 2.8); CPS: (+ 3.7, 2.9, 3.8).

EXPERIMENTO 2

Se utilizaron en este experimento 12 animales a los que se les implantaron electrodos para autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial (CPM). En este grupo se realizó una lesión electrolítica bilateral de la corteza prefrontal sulcal (CPS). Tras la lesión se registró, durante 10 min, la SS y la actividad motora espontánea, en días alternos y durante un periodo de 17 días.

Las coordenadas estereotáxicas utilizadas y obtenidas del atlas de Köning y Klippel fueron: CPM: - 3.7 mm. anterior a bregma, 0.8 mm. lateral a la línea media, 2.8 mm. de profundidad (+ 3.7, 0.8, 2.8); corteza prefrontal sulcal: (+ 3.7, 3, 5.1).

La lesión electrolítica del CPS se llevó a cabo a través de un electrodo aislado totalmente a excepción de 2 mm. en su punta, por el que se hizo pasar una corriente continua de 3 mA durante 20 seg.

EXPERIMENTO 3

En este experimento se utilizaron 15 animales - en los que se implantaron electrodos para autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial (CPM). - En este grupo se realizó una lesión electrolítica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal (CPS) y claustró. Realizada ésta, se registró la SS y la actividad motora operacional durante 10 min., en días alternos y durante un periodo de 17 días.

Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron obtenidas del atlas de Köning y Klippel. Estas fueron: CPM: (+ 3.7, 0.3, 2.8); CPS - claustró: 2.7mm. anterior a bregma, 3 mm. lateral a la línea media y 5.1 mm. de profundidad (+ 2.7, 3, 5.1).

La lesión electrolítica se realizó a través de un electrodo aislado totalmente a excepción de 2.8 - 3 mm. en su punta, por el que se hizo pasar una corriente continua de 3 mA durante 20 seg.

EXPERIMENTO 4

Se utilizaron en este experimento 10 animales - en los que se implantaron quemitrodos para estimulación eléctrica de la corteza prefrontal medial (CPM) y lesión neuroquímica de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal (CPS) y claustró.

En todos los animales, excepto en dos, se inyectó bilateralmente ácido kaínico a la concentración de 10 ngr/ μ l. El volumen inyectado fué de 0,8 μ l. En dos animales se inyectó bilateralmente ac. iboténico a la dosis de 6 ng/ μ l y el volumen administrado fué de 0,8 μ l. El procedimiento empleado para la inyección tanto de ac. kaínico como de iboténico fué el expresado en el apartado 3.5.1. de esta sección. Posteriormente se registró, durante 10 min., la autoestimulación y la actividad motora operacional, en días alternos y durante un periodo postinyección de 17 días. Tres días antes de la inyección de la neurotoxina se inyectaron 0,8 μ l de solvente (solución acuosa tamponada con buffer fosfato a p^H 7,4), registrándose la SS y la actividad motora operacional los

dos días siguientes.

Las coordenadas estereotáxicas de CPM y CPS - - Claustro, obtenidas del atlas de Köning y Klippel. fueron: CPM (+ 3.7, 0.8; 2.8); CPS - Claustro: 2.7 anterior a bregma, 3 mm. lateral a la línea media y 3.8 mm. de profundidad (+ 2.7, 3, 3.8).

EXPERIMENTO 5

En este experimento se utilizaron 11 animales - en los que se implantaron electrodos para autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial (CPM). - Posteriormente, se realizó una lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal (CE). Tras la lesión, se registró la SS y la actividad motora espontánea durante 10 min., en días alternos y durante un período de 17 días.

Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron obtenidas del atlas de Köning y Klippel y son las siguientes: CPM (+ 3.7, 0.8, 2.8); CE: 5.8 mm. posterior a bregma, 6 mm. lateral a la línea media y 6 mm. de profundidad (- 5.8, 6, 6).

La lesión electrolítica de CE se llevó a cabo a través de un electrodo aislado totalmente excepto - 3 mm. en la punta, por el que se hizo pasar una corriente continua de 4 mA durante 30 seg.

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

Efectos de la lesión neurotóxica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación (SS) de la corteza prefrontal medial (CPM).

La inyección bilateral de ácido kaínico en el surco rinal, no produjo modificaciones significativas en la SS de la corteza prefrontal medial ni en la actividad motora espontánea (tabla 1, gráfica 4), a excepción del 1^{er} día, en el que la SS en la CPM mostró un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.01$) -- que se acompañó de una disminución significativa -- ($p < 0.05$) de la actividad motora espontánea. La administración de solvente, realizada previamente a la inyección de ácido kaínico, no produjo modificación en la SS en la CPM ni de la actividad motora espontánea. La gráfica 5 muestra la evolución del peso corporal de los animales de este grupo.

La figura 10 muestra la extensión media de la zona afectada por la inyección de ácido kaínico en el surco rinal. La extensión media de las lesiones producidas por esta neurotoxina en los animales utilizados, estuvo comprendida entre los planos estereotáxicos A 11050 μ y A 9820 μ (según el atlas de Köning y Klippel, 1967).

La fotografía 7 muestra la localización y trayecto de los electrodos de estimulación en ambas cortezas prefrontales mediales. Este ejemplo de localización es extensivo al resto de los experimentos realizados en esta Tesis de Licenciatura.

Las fotografías 8, 9 y 10 muestran en diversos aumentos los efectos neurotóxicos del ácido kaínico en el labio superior del surco rinal.

TABLA 1

Efectos de la inyección bilateral del solvente y del ácido kaínico en el labio superior del surco ri--nal, sobre la autoestimulación en la corteza prefron--tal medial y sobre la actividad motora espontánea, du--rante dos días postinyección del solvente y diecisie--te postinyección del kaínico. Datos expresados en va--lores absolutos. \bar{X} : media. SEM: error estándar de la media. n: número de animales. P: significación esta--dística.

	<u>AUTOESTIMULACION</u>		<u>ACTIVIDAD MOTORA ESPONTANEA</u>		
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	n
<u>CONTROL</u>	333.0 \pm 35.8		585.6 \pm 34.3		7
<u>SOLVENTE</u>					
días					
post-inyección					
1	348.2 \pm 33.9	-	598.6 \pm 56.5	-	7
2	334.1 \pm 24.1	-	547.4 \pm 63.7	-	7
<u>KAINICO</u>					
días					
post-inyección					
1	5.6 \pm 4.0	.01	389.4 \pm 58.4	.05	7
3	300.0 \pm 48.1	-	342.3 \pm 87.3	-	7
5	364.1 \pm 31.1	-	457.0 \pm 59.7	-	7
7	352.3 \pm 48.4	-	465.7 \pm 40.5	-	7
9	360.1 \pm 48.7	-	434.7 \pm 34.0	-	7
11	372.1 \pm 36.6	-	447.3 \pm 40.4	-	7
13	367.9 \pm 39.4	-	488.9 \pm 37.5	-	7
15	395.6 \pm 31.5	-	466.1 \pm 45.8	-	7
17	387.7 \pm 50.3	-	535.4 \pm 37.8	-	7

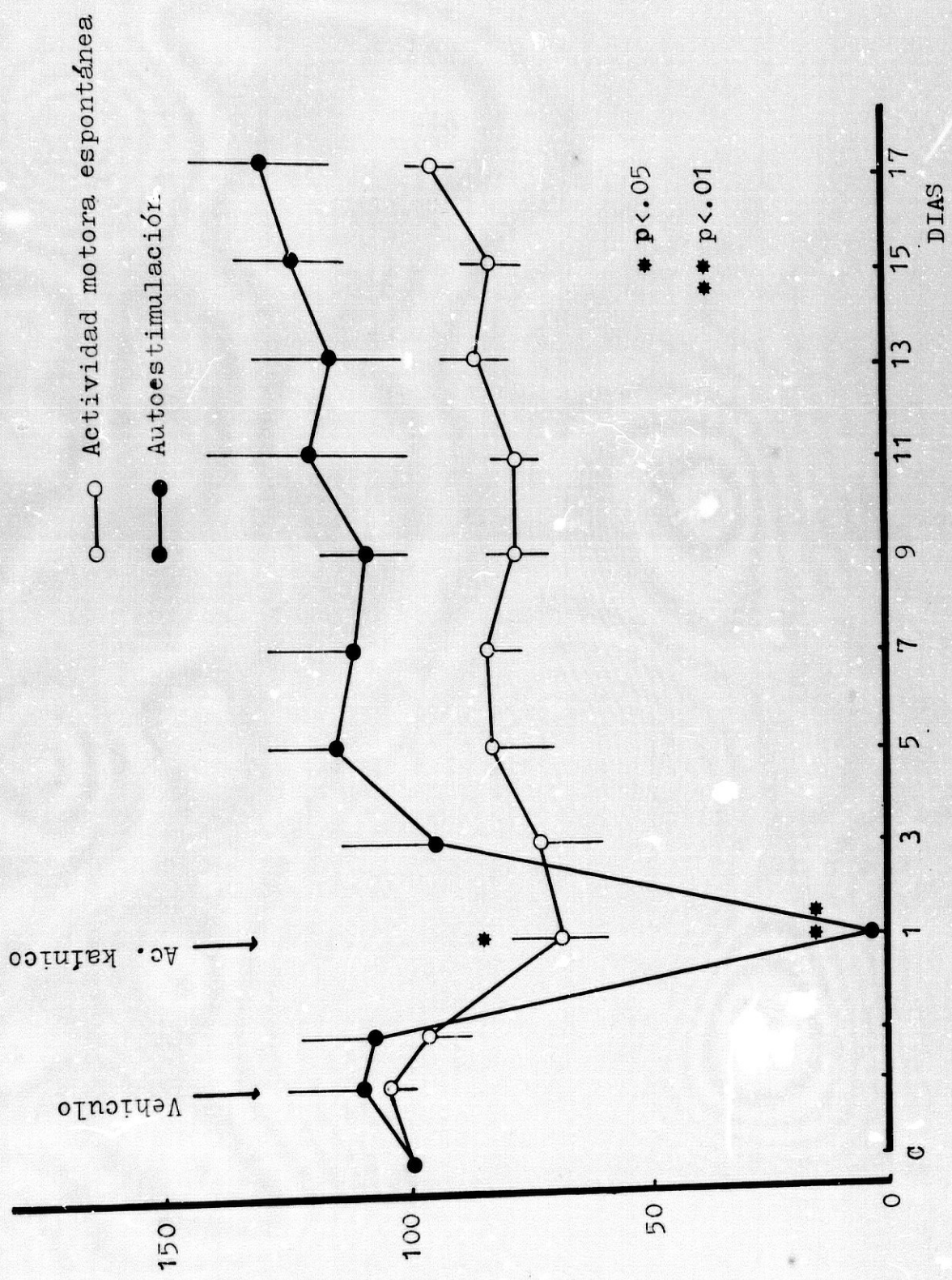
GRAFICA 4

Representación en tantos por ciento respecto del control, de los datos expresados en la tabla 1. En abscisas, se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas los porcentajes. Las líneas verticales, representan el error estándar de la media.

103

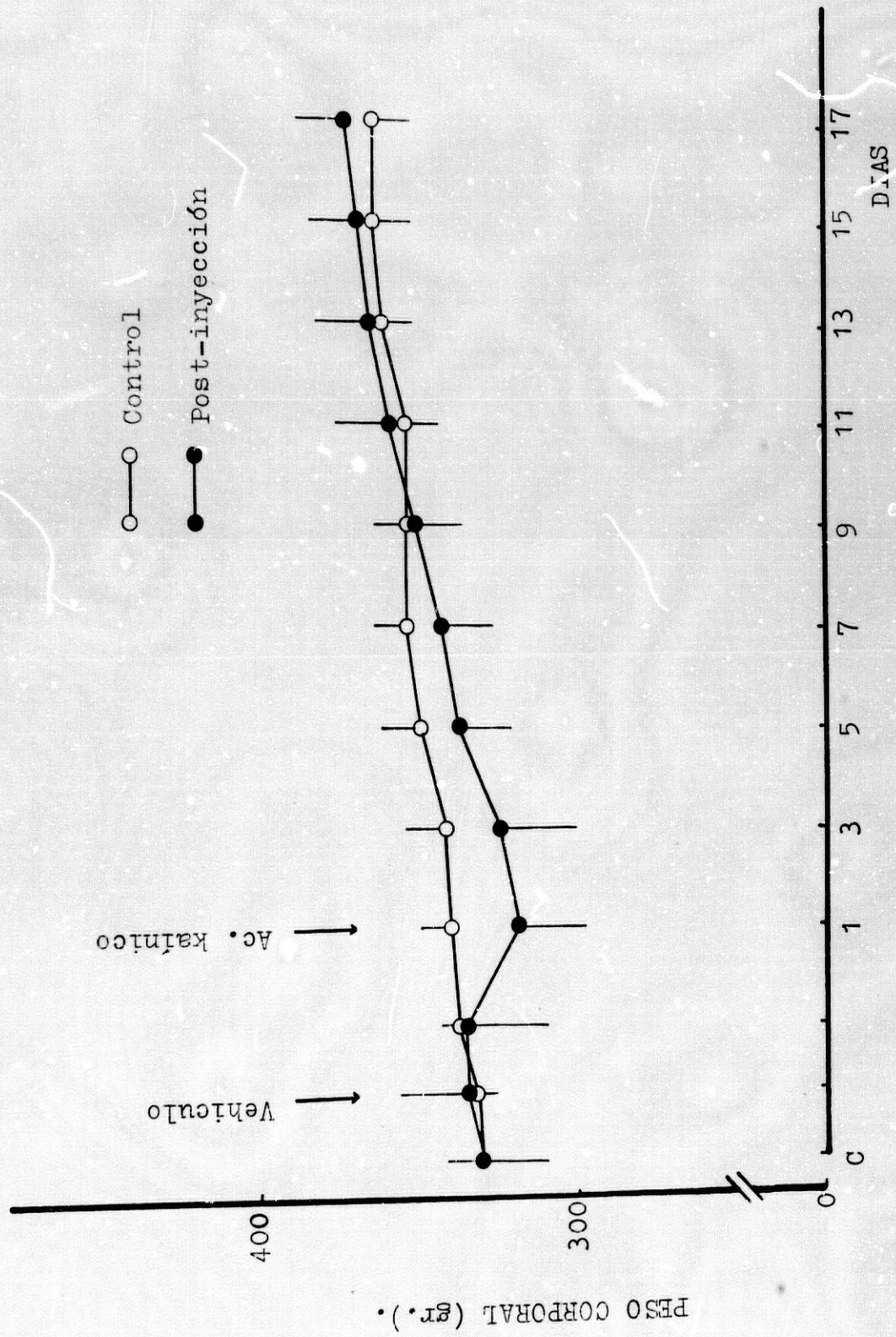
AUTOESTIMULACION/ 10 min.
 (% del control)

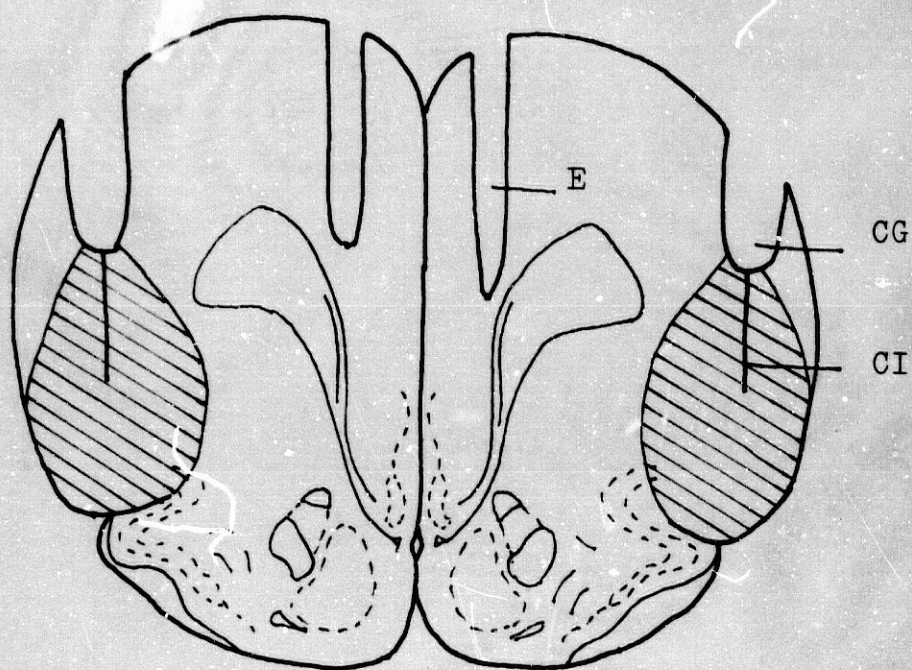
ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA/ 10 min.
 (% del control)



GRAFICA 5

Evolución de la media del peso de los animales - durante dos días postinyección del solvente y diecisiete postinyección del kainico en el labio superior del surco rinal. El control representa la evolución del peso de un grupo de 6 animales no intervenidos. - En abscisas se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas el peso corporal expresado en gramos. Las líneas verticales representan el error estándar de la media.





A 10300 μ

FIGURA 10.

Representa la extensión media de la zona del -
surco rinal afectada por las inyecciones de ácido -
kaínico (zona rayada), observada en los animales uti-
lizados. La figura ha sido tomada del atlas de Kö---
ning y Klippel (1967). E: electrodos. CG: cánula guía
CI: cánula inyectora.

10500 μ

FOTOGRAFIA 7

Localización y trayecto de los electrodos estimu-
ladores en ambas cortezas prefrontales mediales en -
uno de los animales utilizados en esta Tesis de Licen-
ciatura. Como puede observarse, los electrodos se si-
tuaron en las capas profundas (V-VI) del área prelím-
bica (Krettek y Price, 1977 a).

FOTOGRAFIAS 8, 9 y 10.

Las fotografías 8, 9 y 10 muestran diversos aumentos (20, 100 y 200, respectivamente), obtenidos del plano estereotáxico A 10050 μ del ejemplo CPS_N- 542. En ellas se observa la lesión celular producida por el ácido kaínico (gliosis reactiva y pignosis nuclear).

FOTOGRAFIA 8

FOTOGRAFIA 9

FOTOGRAFIA 10

EXPERIMENTO 2

Efectos de la lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal sobre la autoestimulación (SS) en la corteza prefrontal medial (CPM).

La lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal no modificó de una manera estadísticamente significativa la SS de la CPM, a excepción del 13 y 17 días postlesión ($p < 0.05$). La actividad motora espontánea no mostró modificaciones estadísticamente significativas (tabla 2, gráfica 6), a excepción del 1^a día postlesión ($p < 0.05$). La evolución del peso corporal de los animales se muestra en la gráfica 7.

La figura 11 muestra en una serie estereotáctica la extensión media de la lesión bilateral del surco rinal, observada en los animales utilizados. La extensión media de la lesión estuvo comprendida entre los planos estereotáticos A 11050 μ y A 9650 μ (según el atlas de Köning y Klippel, 1967).

La fotografía 11 muestra en una preparación histológica, la lesión bilateral del surco rinal observada en uno de los animales utilizados (ejemplo CPS - 567).

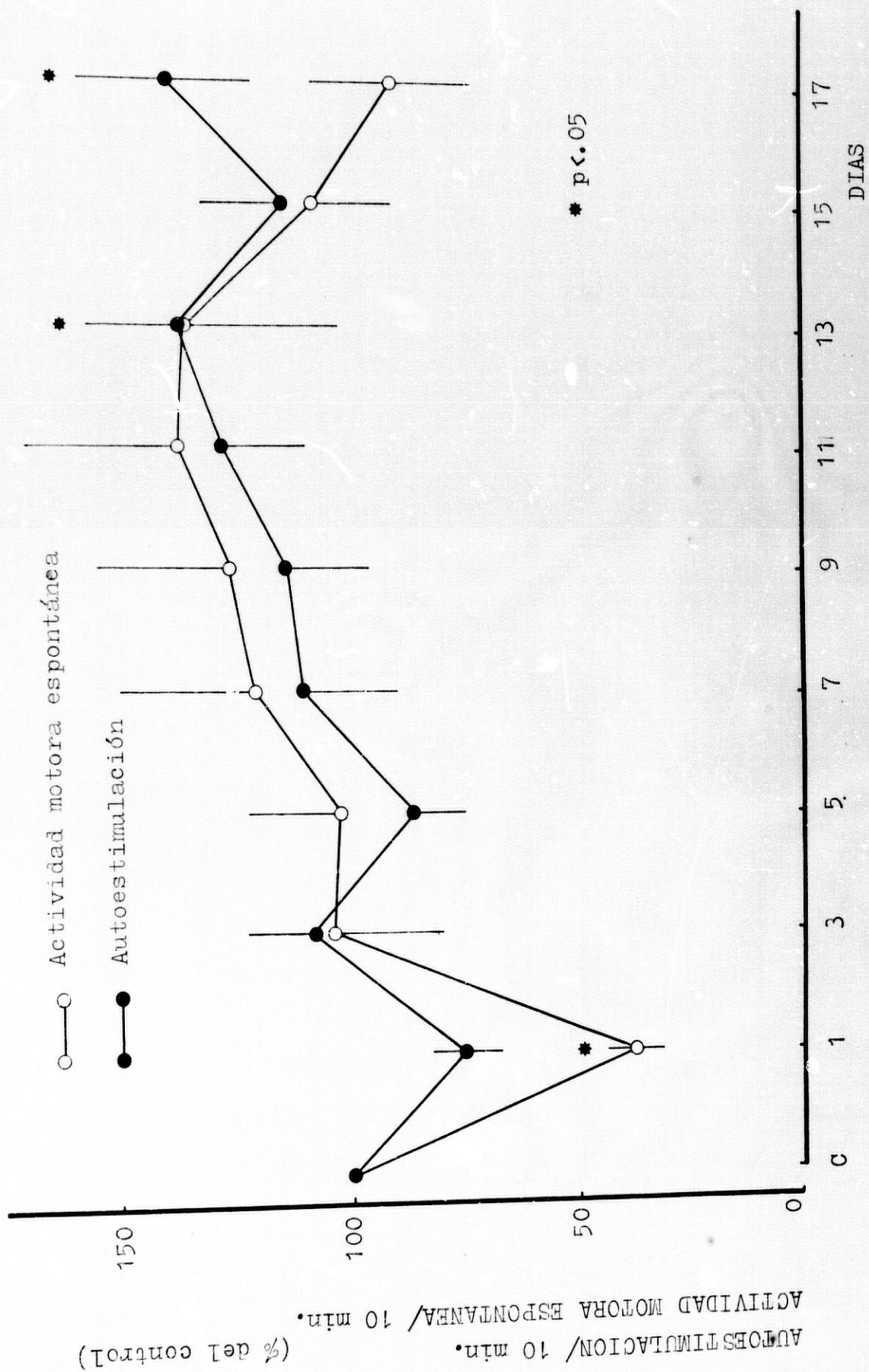
	<u>AUTOESTIMULACION</u>		<u>ACTIVIDAD MOTORA ESPONTANEA</u>		
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	n
<u>CONTROL</u>	339.9 \pm 52.1		344.7 \pm 45.5		6
<u>DIAS POST-LESION</u>					
1	256.3 \pm 41.1	-	147.7 \pm 37.8	-	6
3	369.0 \pm 60.5	-	345.0 \pm 74.6	-	6
5	284.2 \pm 53.1	-	328.0 \pm 38.7	-	6
7	351.3 \pm 60.2	-	367.7 \pm 43.0	-	6
9	367.5 \pm 54.6	-	399.2 \pm 59.5	-	6
11	421.7 \pm 63.8	-	444.8 \pm 74.6	-	6
13	443.2 \pm 58.7	.05	414.5 \pm 58.9	-	6
15	376.3 \pm 57.7	-	357.2 \pm 54.0	-	6
17	441.5 \pm 59.1	.05	308.2 \pm 59.4	-	6

TABLA 2.

Efectos de la lesión electrolítica bilateral -- del labio superior del surco rinal sobre la SS de la corteza prefrontal medial y sobre la actividad motora espontánea, durante un periodo de diecisiete días. Datos expresados en valores absolutos. x: media. SEM: error estándar de la media. n: nº de animales. p: -- significación estadística.

GRAFICA 6

Representación en tantos por ciento respecto del control, de los datos expresados en la tabla 2. En - abscisas, se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas los porcentajes. Las líneas verticales, representan el error estándar de la media.



GRAFICA 7

Evolución de la media del peso de los animales, durante los diecisiete días posteriores a la lesión bilateral del labio superior del surco rinal. El control representa la evolución del peso de un grupo de 6 animales no intervenidos. En abscisas se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas el peso corporal expresado en gramos. Las líneas verticales representan el error estándar de la media.

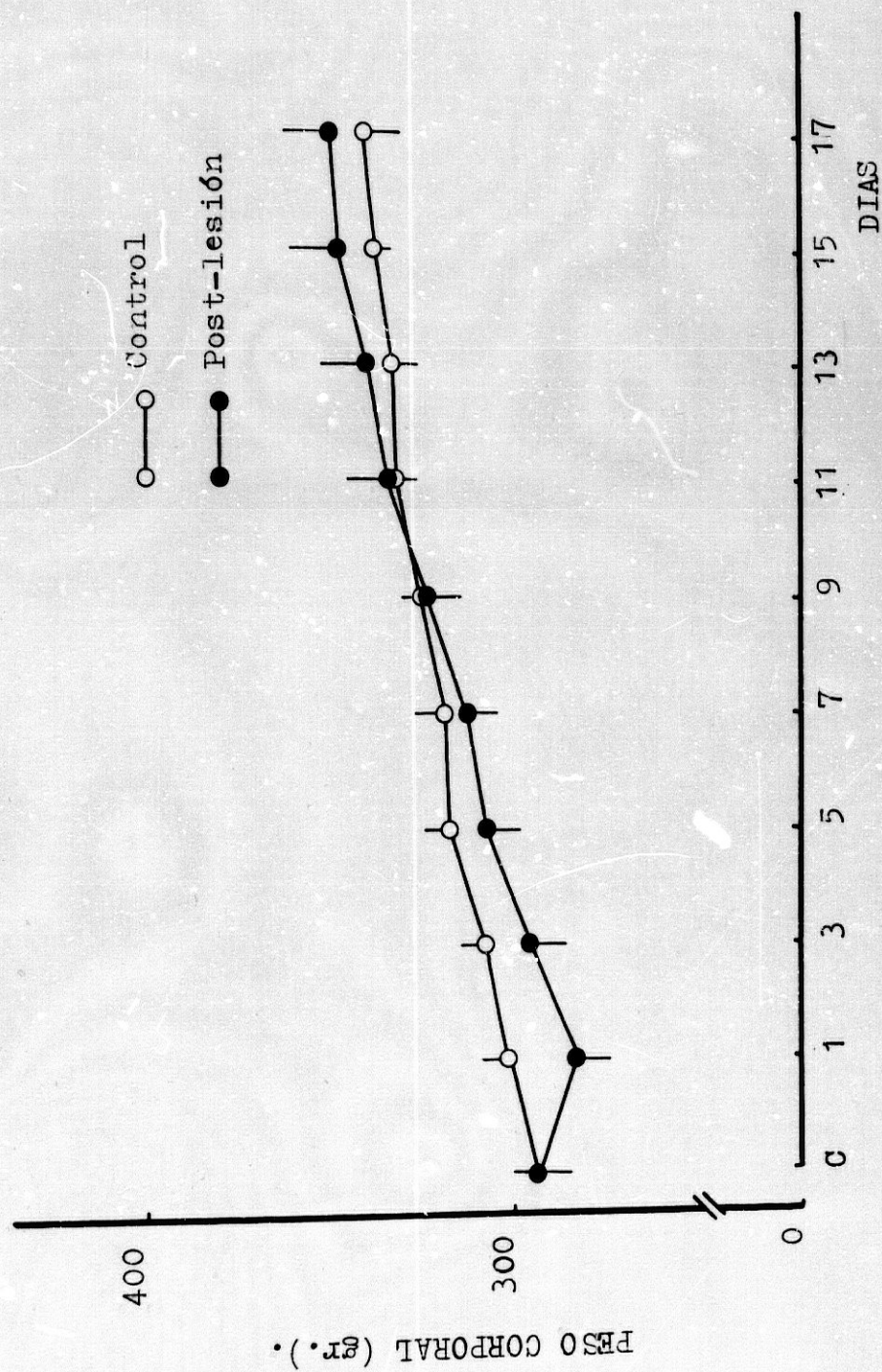
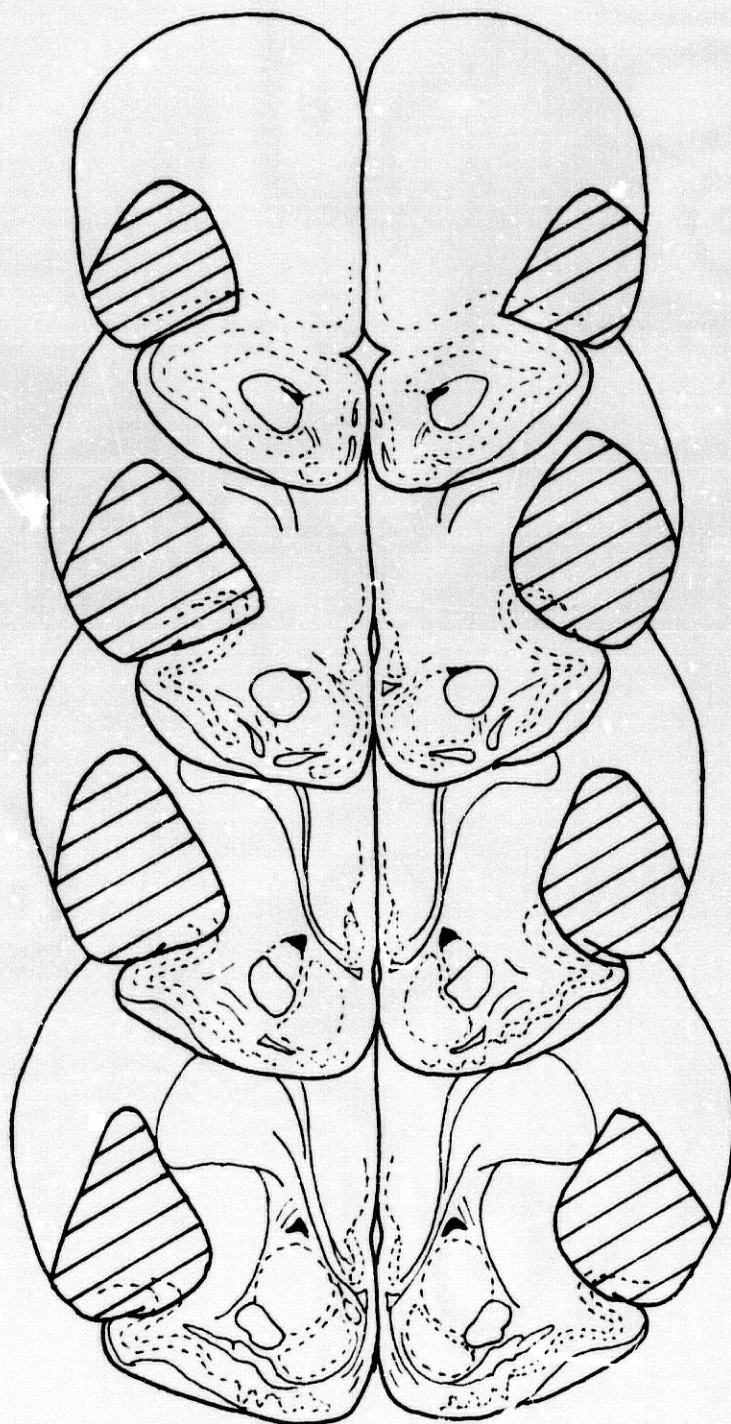


FIGURA 11

Representa la extensión media de la lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco ri-nal. Las lesiones se extendieron desde el plano A - 11050 μ hasta el A 9650 μ (Köning y Klippel, 1967).

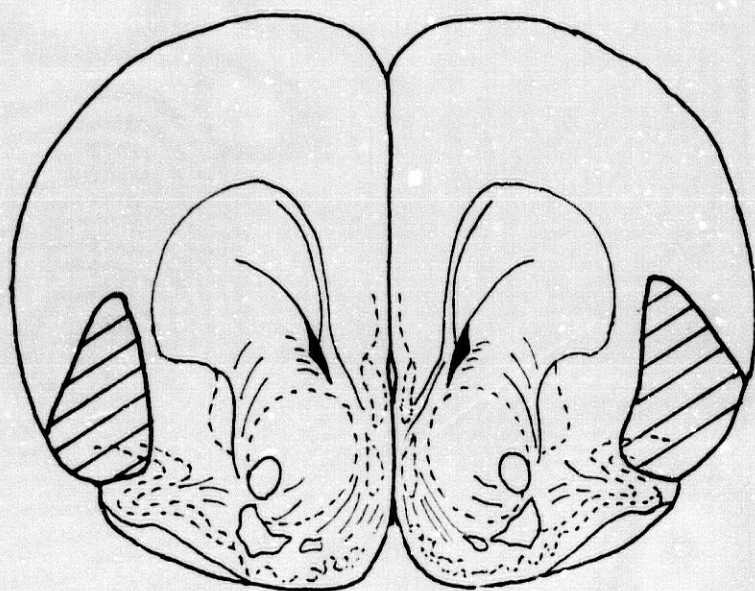


A 11050 μ

A 10500 μ

A 10300 μ

A 10050 μ



A 9820 μ

A 11050 u

FOTOGRAFIA 11

Preparación histológica de la lesión electrolítica bilateral del labio superior del surco rinal en uno de los animales utilizados (ejemplo CPS-567). El plano estereotáxico se ha obtenido del atlas de K~~ö~~ning y Klippel (1967).

EXPERIMENTO 3

Abolición de la autoestimula---
ción (SS) en la corteza prefron-
tal medial (CPM) tras la lesión
electrolítica bilateral de la -
porción insular de la corteza -
prefrontal sulcal (CPS) y claus-
tro.

La lesión electrolítica bilateral de la porción insular de CPS y claustró produjo una inhibición permanente de la SS en la CPM (tabla 3, gráfica 8). Esta inhibición fué estadísticamente significativa en todos los días registrados ($p < 0.01$). Sin embargo, la actividad motora operacional, utilizada como control, sólo mostró un descenso estadísticamente significativo los días 1, 3 ($p < 0.01$) y 5 ($p < 0.05$), para recuperarse posteriormente los valores control.

La figura 12 muestra en una serie estereotáctica la extensión media de la lesión bilateral de la porción insular de CPS y claustró, observada en los animales utilizados. La extensión media de la lesión estuvo comprendida entre los planos estereotáticos A - 10300 μ y A 7890 μ (Köning y Klippel, 1967).

La fotografía 12 muestra en una preparación histológica, la lesión bilateral de la porción insular de CPS y claustró observada en uno de los animales utilizados (ejemplo CPS - C - 582).

	<u>AUTOESTIMULACION</u>		<u>ACTIVIDAD MOTORA OPERACIONAL</u>		
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	n
<u>CONTROL</u>	394.7 \pm 51.2		324.9 \pm 27.4		7
<u>7 DÍAS POSTLESION</u>					
1	11.9 \pm 10.2	.01	17.0 \pm 12.0	.01	7
3	29.6 \pm 26.8	.01	109.1 \pm 39.0	.01	7
5	8.1 \pm 7.3	.01	119.1 \pm 22.8	.05	7
7	2.0 \pm 1.0	.01	246.3 \pm 34.9	-	7
9	7.4 \pm 5.3	.01	272.6 \pm 58.1	-	7
11	3.0 \pm 1.1	.01	315.4 \pm 42.8	-	7
13	5.6 \pm 4.3	.01	350.3 \pm 52.7	-	7
15	6.6 \pm 3.9	.01	379.1 \pm 55.4	-	7
17	15.1 \pm 14.8	.01	332.1 \pm 33.8	-	7

TABLA 3

Efectos de la lesión electrolítica bilateral de la parte posteromedial de la porción insular de CPS y claustró en la SS de la corteza prefrontal medial y en la actividad motora operacional, durante un período de diecisiete días. Datos expresados en valores absolutos. \bar{x} : media. SEM: error estándar de la media. n: nº de animales. p: significación estadística.

GRAFICA 8

Representación en tantos por cien respecto del - control, de los datos expresados en la tabla 3. En - abscisas, se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas los porcentajes. Las líneas verticales, representan el error estándar de la media.

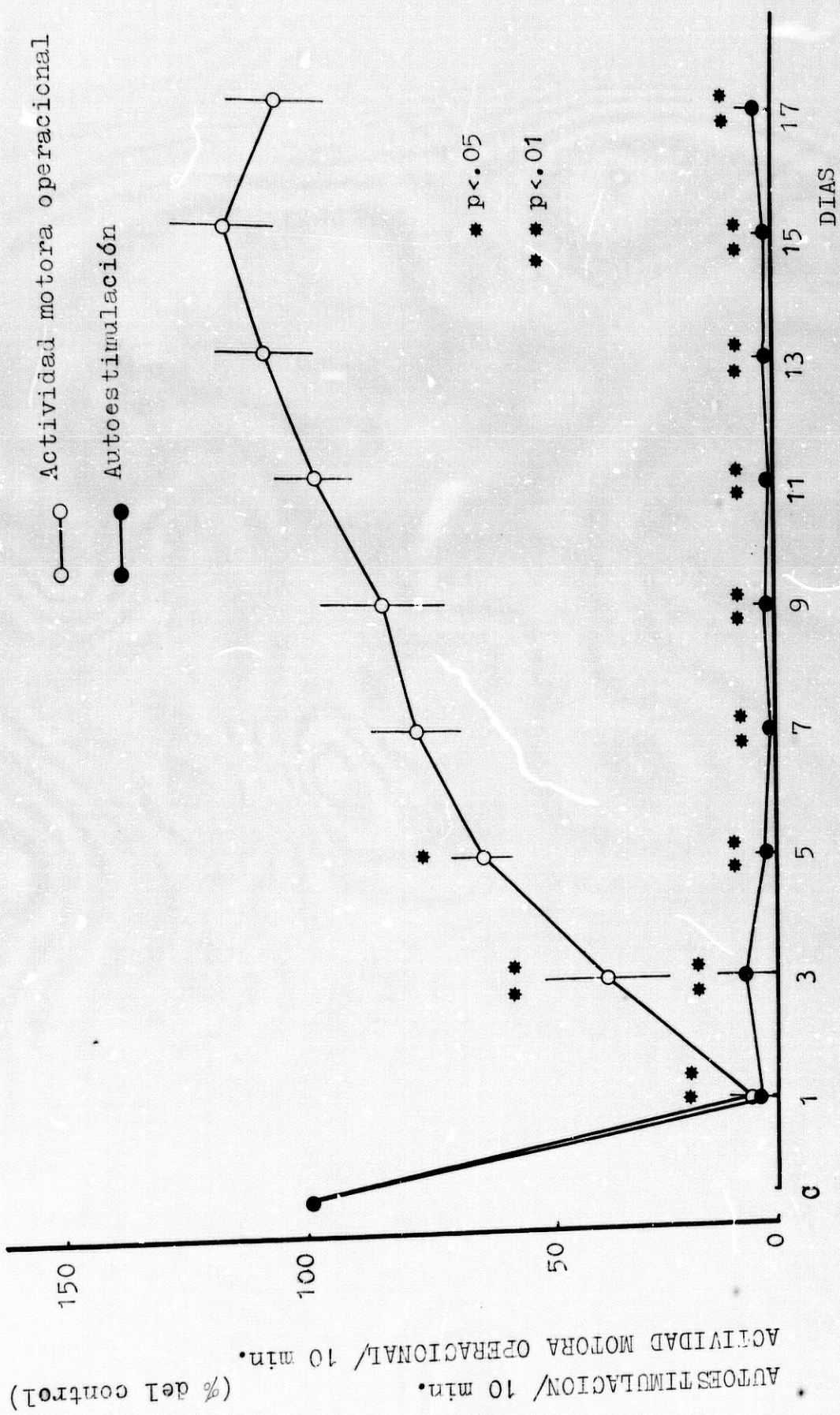
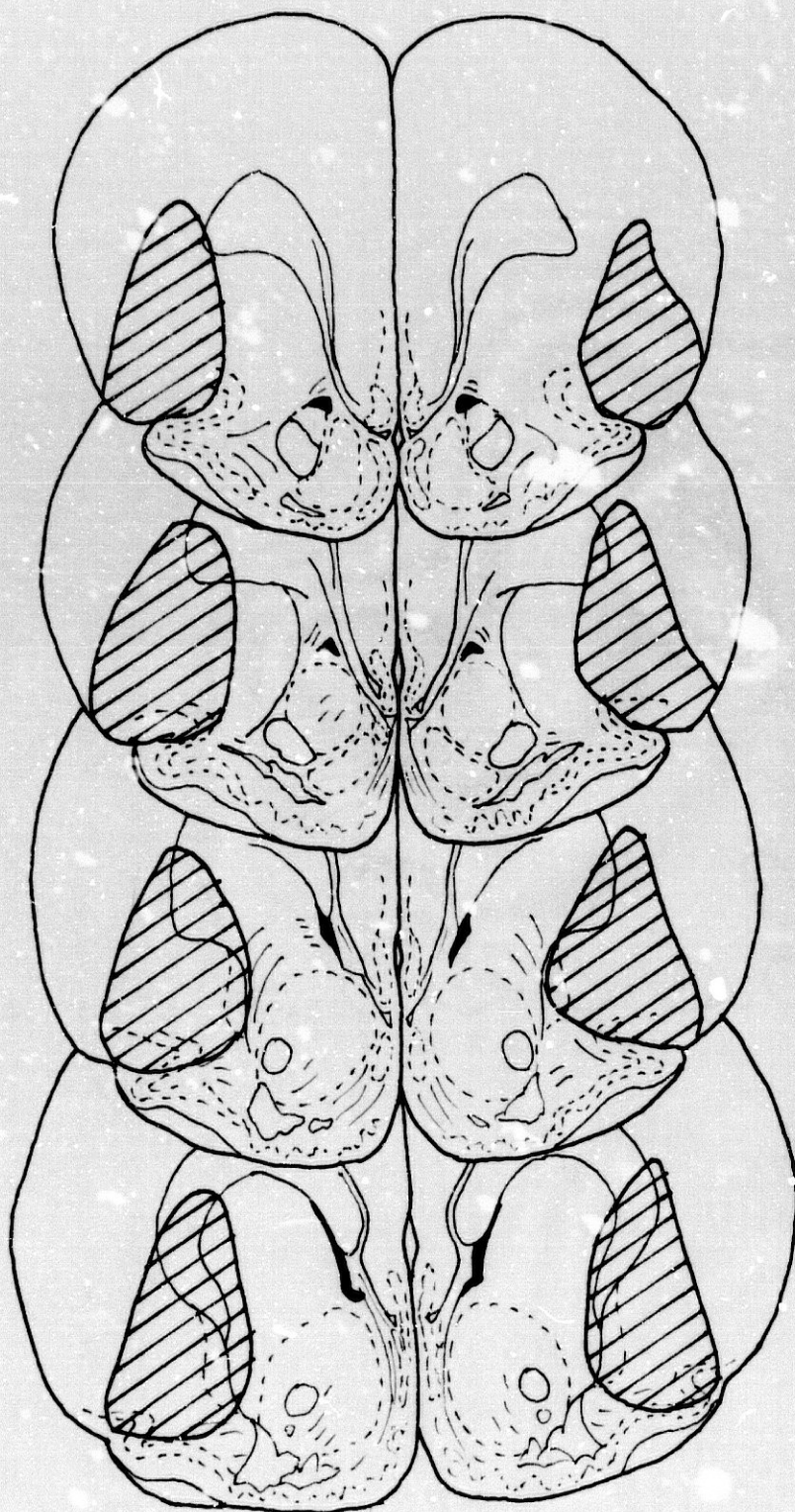


FIGURA 12

Representa la extensión media de la lesión electrolítica bilateral de la porción insular de la CPS y claustro. Las lesiones se extendieron desde el plano A 10300 μ hasta el A 7890 μ (Köning y Klippel, 1967).

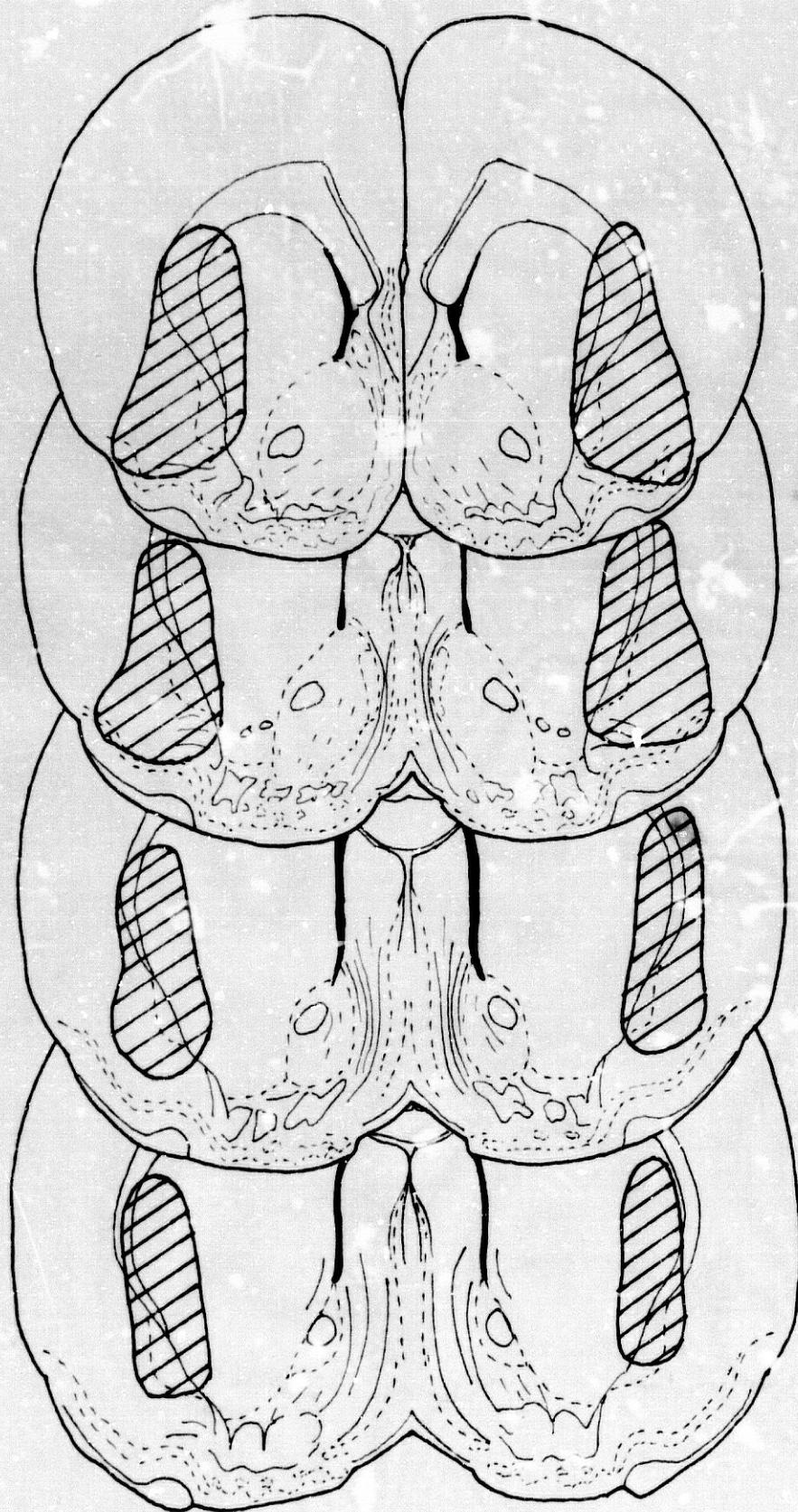


A 10300 μ

A 10050 μ

A 9820 μ

A 9650 μ



A 9410 μ

A 8620 μ

A 8380 μ

A 7890 μ

A 9650 μ

FOTOGRAFIA 12

Preparación histológica de la lesión electrolítica bilateral de la porción insular de CPS y claustro en uno de los animales utilizados (ejemplo CPS - C 582). El plano estereotáxico se ha obtenido del atlas - de Köning y Klippel (1967).

EXPERIMENTO 4

mantenimiento de la autoestimulación (SS) en la corteza prefrontal medial (CPM) tras la lesión neurotóxica bilateral de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal (CPS) y claustró.

La inyección bilateral de ácido kaínico en la porción insular de CPS y claustró, no produjo modificaciones significativas en la SS de la corteza prefrontal medial (tabla 4, gráfica 9), a excepción del 1^{er} día, en el que la SS en la CPM mostró un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.01$) que se acompañó de una disminución significativa de la actividad motora operacional ($p < 0.01$). Esta última, además, muestra un aumento significativo el 17 día postlesión ($p < 0.05$). La administración de solvente, realizada previamente a la inyección de ácido kaínico, no produjo modificaciones de la SS en la CPM ni de la actividad motora operacional.

La figura 13 muestra la extensión media de la zona afectada por la inyección de ácido kaínico en CPS y claustró. La extensión de las lesiones producidas por esta neurotoxina en los animales utilizados, estuvo comprendida entre los planos estereotáxicos A - 10300 μ y A 8620 μ (según el atlas de Köning y Klippel, 1967).

Las fotografías 12, 14 y 15 muestran, en diversos aumentos, los efectos neurotóxicos del ácido kaínico en claustró y CPS.

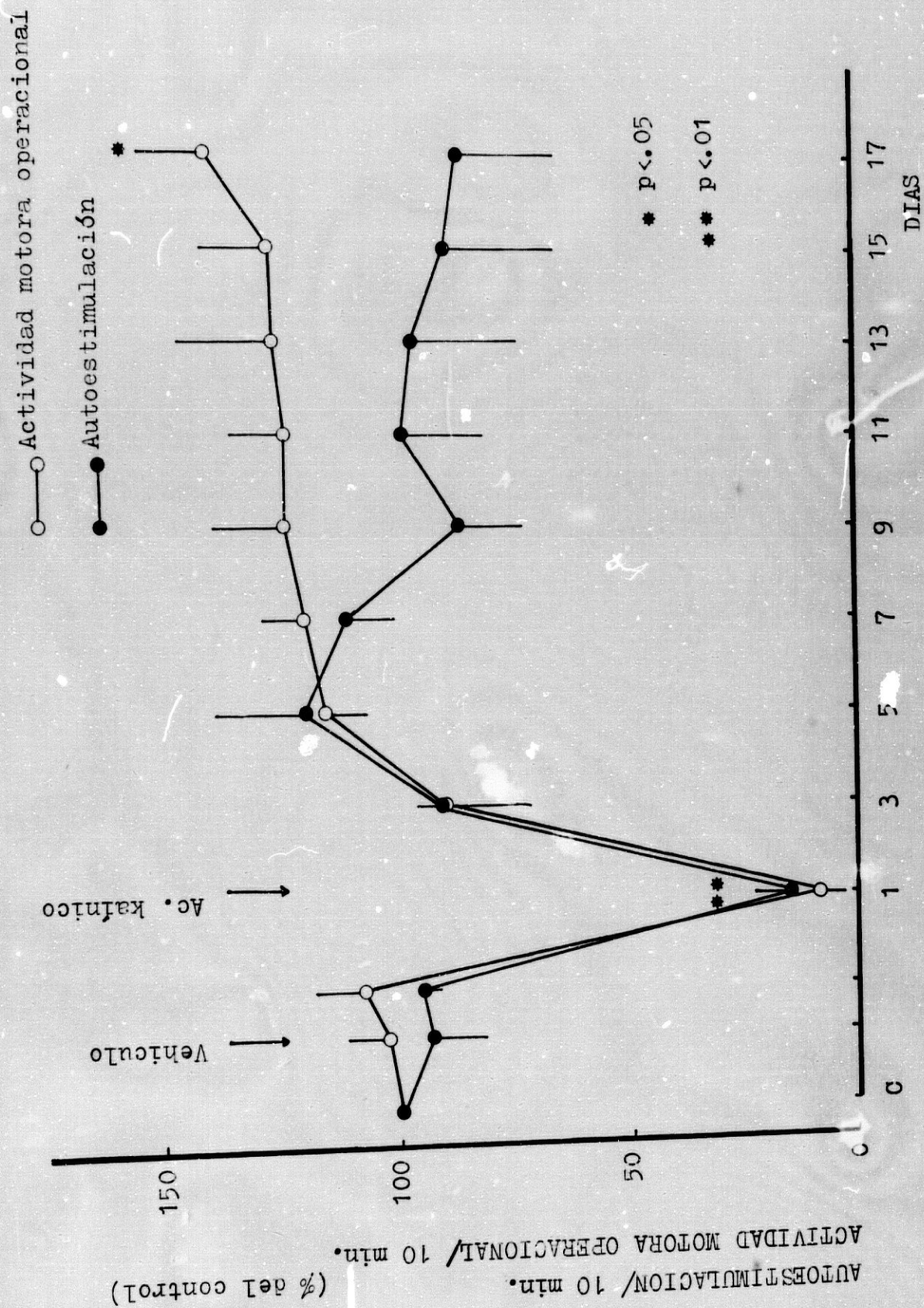
TABLA 4

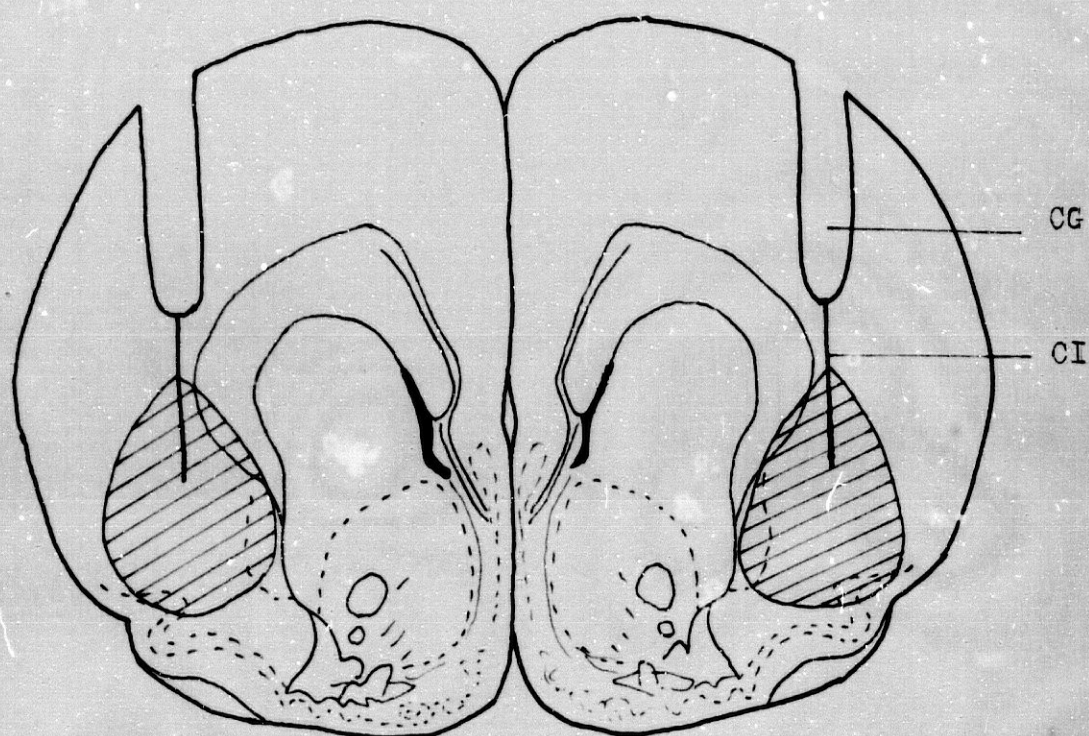
Efectos de la inyección bilateral del solvente y ácido kaínico en la porción insular de CPS y claustró, sobre la autoestimulación en la corteza prefrontal medial y sobre la actividad motora operacional, durante dos días postinyección del solvente y diecisiete postinyección del kaínico. Datos expresados en valores absolutos \bar{X} : media. SEM: error estándar de la media. n: número de animales. p: significación estadística.

	<u>AUTOESTIMULACION</u>		<u>ACTIVIDAD MOTORA OPERACIONAL</u>		
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	n
<u>CONTROL</u>	413.8 \pm 95.3		396.1 \pm 21.3		5
<u>SOLVENTE</u>					
días					
post-inyección					
1	342.2 \pm 53.1	-	402.8 \pm 33.0	-	5
2	386.6 \pm 87.7	-	428.4 \pm 47.1	-	5
<u>KAINICO</u>					
días					
post-inyección					
1	81.0 \pm 58.7	.01	27.4 \pm 16.3	.01	5
3	381.8 \pm 91.1	-	354.4 \pm 67.9	-	5
5	424.8 \pm 57.6	-	452.0 \pm 17.2	-	5
7	428.6 \pm 77.7	-	468.8 \pm 16.5	-	5
9	343.4 \pm 78.5	-	484.8 \pm 48.9	-	5
11	447.2 \pm 23.7	-	481.2 \pm 19.3	-	5
13	427.0 \pm 11.7	-	485.2 \pm 50.0	-	5
15	386.4 \pm 99.3	-	492.4 \pm 38.7	-	5
17	383.4 \pm 10.5	-	544.6 \pm 35.3	.05	5

GRAFICA 9

Representación en tantos por ciento respecto del control, de los datos expresados en la tabla 4. En - abscisas se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas los porcentajes. Las líneas verticales, representan el error estándar de la media.





A 9650 μ

FIGURA 13

Representa la extensión media de la zona de clausuro y porción insular de CPS afectada por las inyecciones de ácido kaínico (zona rayada), observada en los animales utilizados. La figura ha sido tomada del atlas de Köning y Klippel (1967).

CG: cánula guía. CI: cánula inyectora.

FOTOGRAFIAS 13, 14 y 15

Las fotografías 13, 14 y 15 muestran diversos aumentos (20, 100 y 200 respectivamente), obtenidos del plano estereotáxico A 9820 μ del ejemplo CPS - C_N - 594. En ellas se observa la pignosis celular y la gliosis reactiva producida por el ácido kaínico.

FOTOGRAFIA 13

FOTOGRAFIA 14

FOTOGRAFIA 15

EXPERIMENTO 5

Efectos de la lesión electrolítica bilateral de la corteza en torrinal (CE) sobre la auto sti mulación (SS) en la corteza pre frontal medial (CPM).

En la tabla 5 y gráfica 10, se muestran los efectos de la lesión electrolítica bilateral de CE sobre la SS en la corteza prefrontal medial (CPM) y sobre la actividad motora espontánea. Como puede observarse, la SS no mostró un descenso estadísticamente significativo, a excepción del 1^{er} día postlesión ($p < 0.01$). La actividad motora espontánea no mostró modificaciones estadísticamente significativas. La gráfica 11 -- muestra la evolución del peso corporal de los animales de este grupo.

La figura 14 muestra en una serie estereotáctica -- la extensión media de la lesión bilateral de CE, observada en los animales utilizados. La extensión media de la lesión estuvo comprendida entre los planos estereotáxicos A 2790 μ y A 1270 μ (Köning y Klippel, 1967).

La fotografía 16 muestra en una preparación histológica, la lesión bilateral de CE observada en uno de los animales utilizados (ejemplo CE - 555).

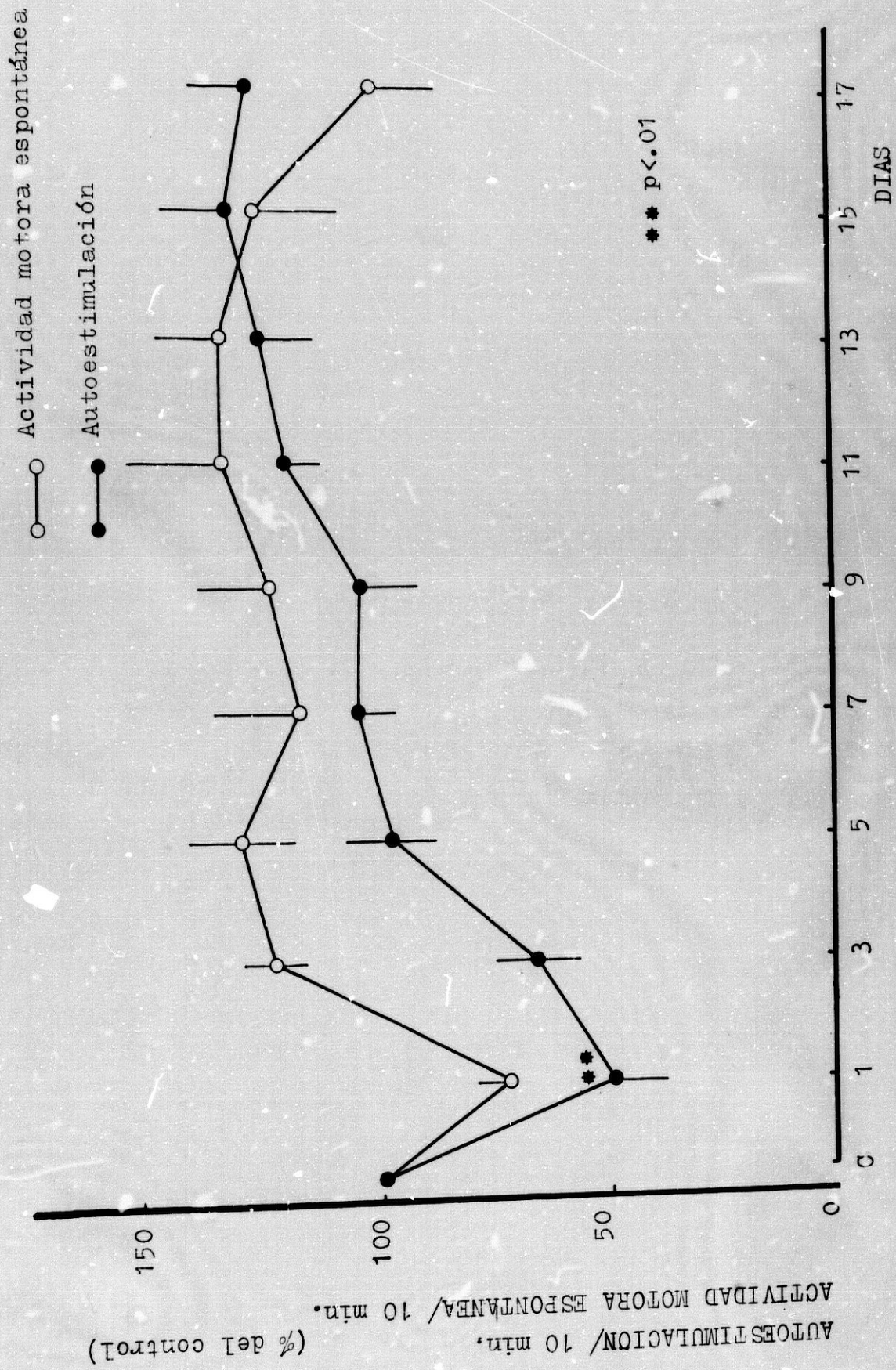
	<u>AUTOESTIMULACION</u>		<u>ACTIVIDAD MOTORA ESPONTANEA</u>		
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	p	n
<u>CONTROL</u>	324.1 \pm 22.4		374.3 \pm 22.4		7
<u>DIAS</u> <u>POST-LESION</u>					
1	180.4 \pm 46.6	.01	262.0 \pm 23.8	-	7
3	273.4 \pm 46.8	-	451.9 \pm 27.7	-	7
5	297.1 \pm 30.5	-	475.9 \pm 38.3	-	7
7	329.4 \pm 43.1	-	424.9 \pm 62.6	-	7
9	313.0 \pm 34.7	-	448.3 \pm 51.2	-	7
11	376.3 \pm 40.2	-	480.4 \pm 58.4	-	7
13	383.7 \pm 39.5	-	487.1 \pm 44.7	-	7
15	405.1 \pm 43.6	-	460.0 \pm 68.9	-	7
17	382.7 \pm 32.2	-	371.1 \pm 57.5	-	7

TABLA 5

Efectos de la lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal en la SS de la corteza prefrontal medial y en la actividad motora espontánea, durante un periodo de diecisiete días. Datos expresados en valores absolutos. \bar{x} : media. SEM: error estándar de la media. n: nº de animales. p: significación estadística.

GRAFICA 10

Representación en tantos por cien respecto del -
control, de los datos expresados en la tabla 5. En -
abscisas, se representa el tiempo expresado en días y
en ordenadas los porcentajes. Las líneas verticales,
representan el error estándar de la media.



GRAFICA 11

Evolución de la media del peso de los animales, durante los diecisiete días posteriores a la lesión bilateral de la corteza entorrinal. El control representa la evolución del peso de un grupo de 6 animales no intervenidos. En abscisas se representa el tiempo expresado en días y en ordenadas el peso corporal expresado en gramos. Las líneas verticales representan el error estándar de la media.

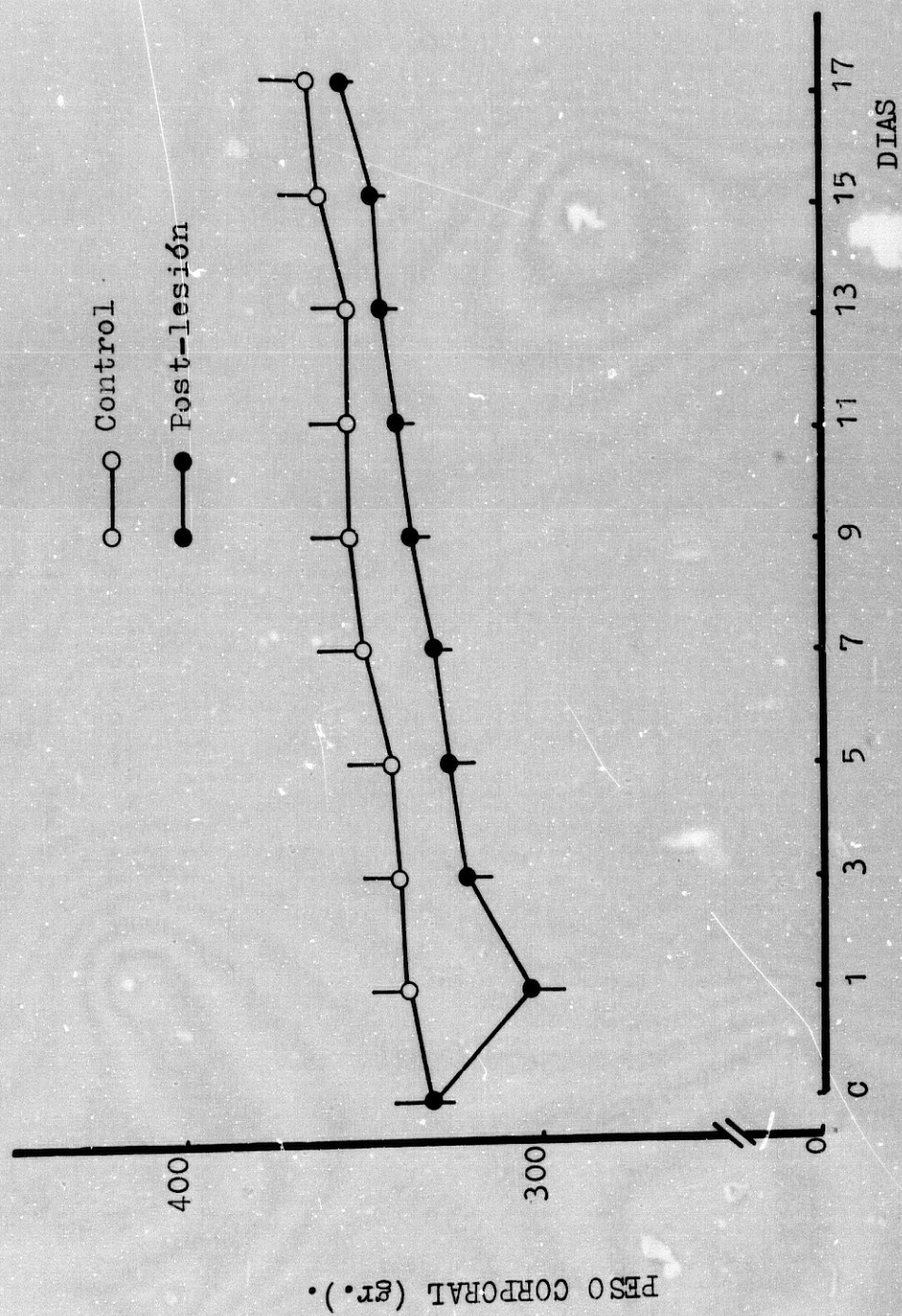
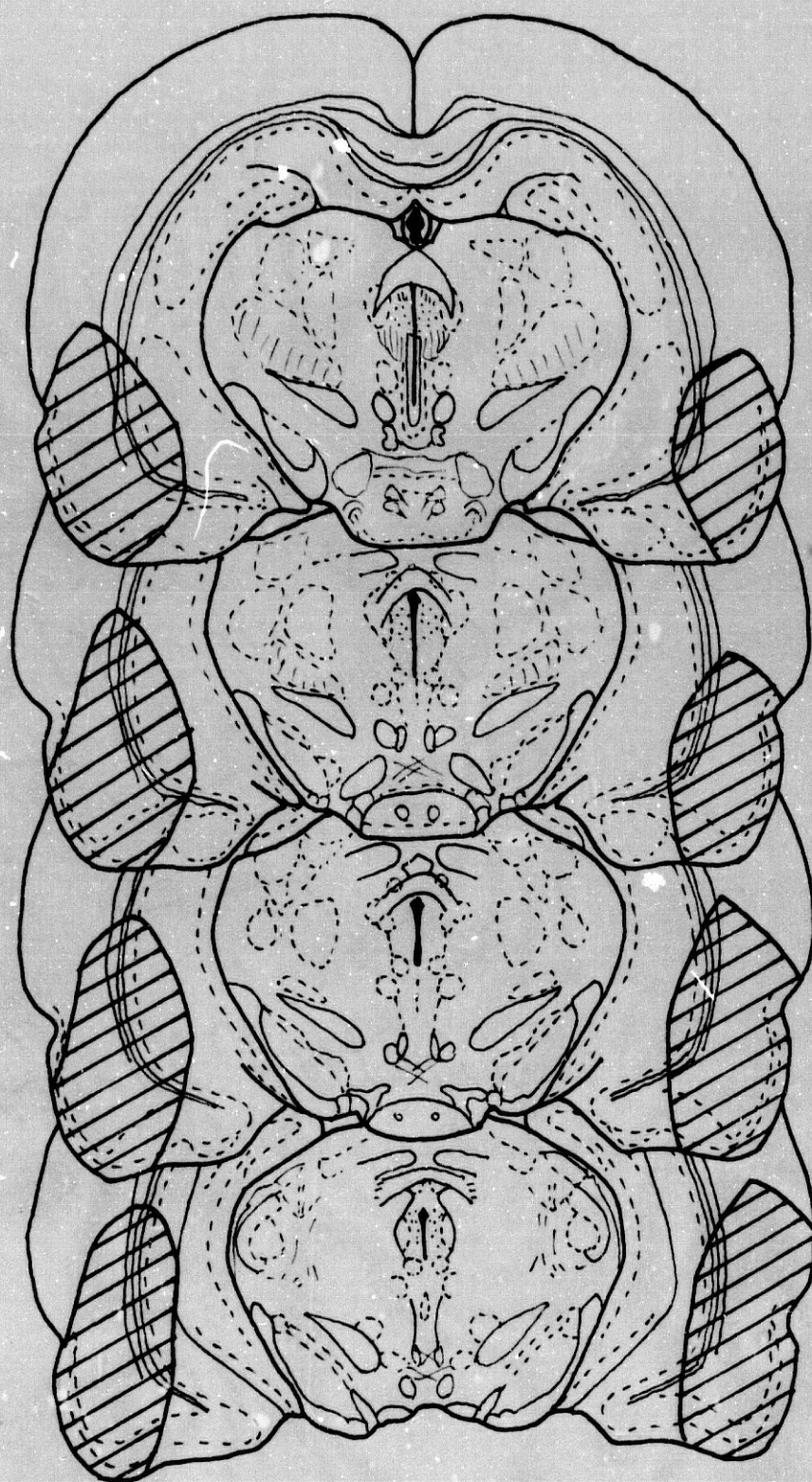


FIGURA 14

Representa la extensión media de la lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal. Las lesiones se extendieron desde el plano A 2790 μ hasta el A 1270 μ (Köning y Klippel, 1967).

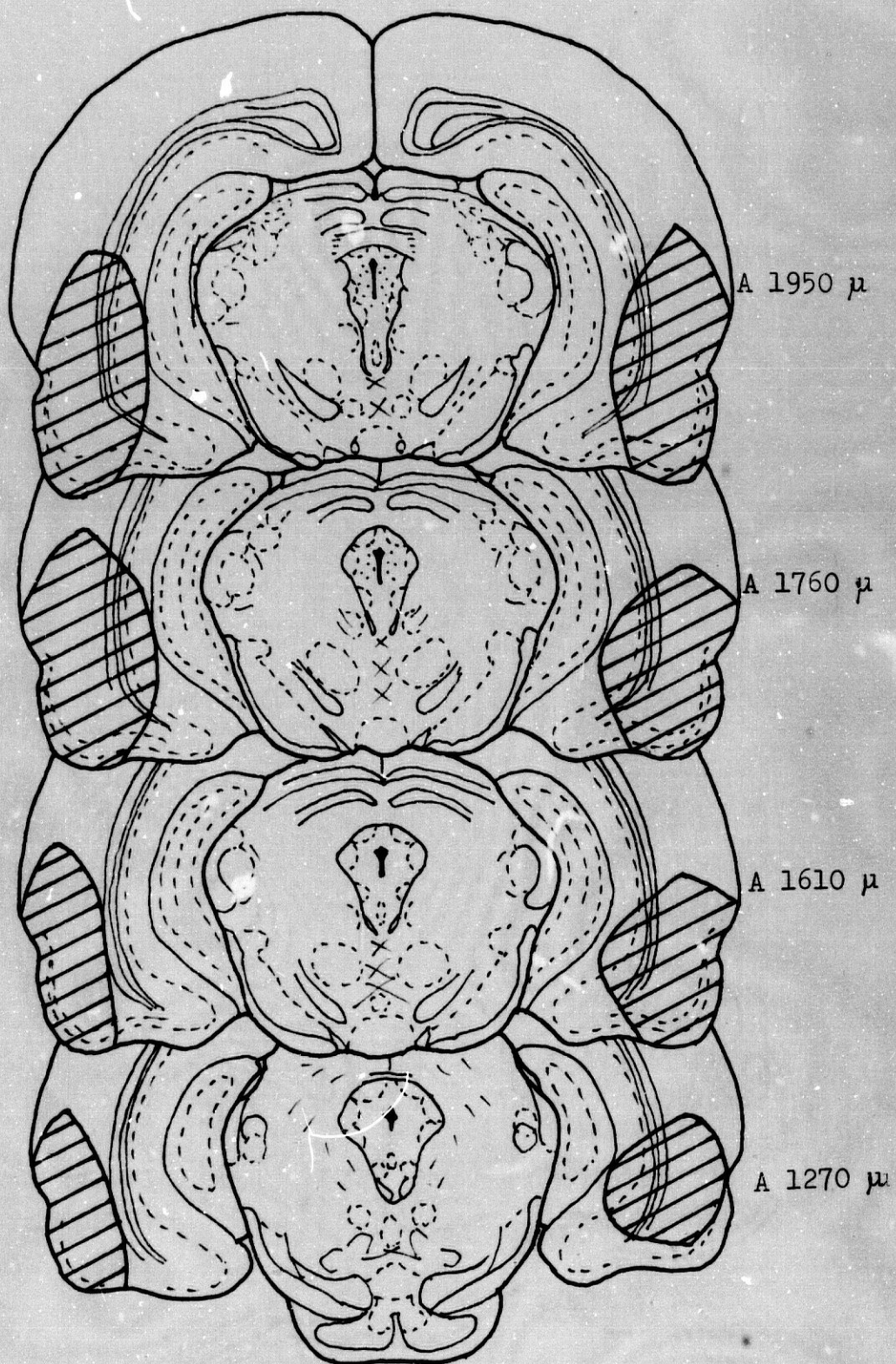


A 2790 μ

A 2580 μ

A 2420 μ

A 2180 μ



FOTOGRAFIAS 16 y 17.

Preparaciones histológicas de la lesión electrolítica bilateral de la corteza entorrinal en uno de los animales utilizados (ejemplo CE - 555). El plano estereotáxico se ha obtenido del atlas de Köning y Klippel (1967).

FOTOGRAFIA 16

A 1760 μ

FOTGRAFIA 17

A 1270 μ

DISCUSSION

INTRODUCCION

En los últimos ocho años, un gran número de estudios han sido realizados con el objeto de conocer los substratos del proceso de autoestimulación en la corteza prefrontal medial, particularmente, para dilucidar la implicación de las vías aferentes y eferentes que dicha área establece con otras estructuras que igualmente sostienen autoestimulación (Phillips y Fibiger, 1978; Morales, 1982; Corbett et al. 1982; Ramirez et al., 1983; Ferrer, 1984; Vives et al., 1986).

En relación a las aferencias, se ha sugerido la participación de las proyecciones originadas en el área ventro tegmental del mesencéfalo. Así, la lesión tanto electrolítica como neuroquímica de este área, produce una atenuación permanente de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial (Phillips y Fibiger, 1978; Morales, 1982). Igualmente, se ha estudiado la participación de las aferencias originadas en el núcleo dorsomedial del tálamo, pero los resultados obtenidos son controvertidos. En este sentido, Corbett et al. (1982), han mostrado que la autoestimulación en la corteza prefrontal medial no se afecta tras la lesión electrolítica bilateral del núcleo dorsomedial del tálamo. Sin embargo, Vives et al. (1986) han mostrado una atenuación temporal de la autoestimulación tras la lesión electrolítica bilateral de dicho núcleo. Estas diferencias pueden expli-

carse, en parte, por la distinta localización de los electrodos implantados en la corteza prefrontal medial (Mora y Ferrer, 1986). Así, mientras en los estudios de Corbett et al. los electrodos están localizados en las capas superficiales de la corteza prefrontal medial, en los estudios de Vives et al. se localizan en las capas más profundas de dicha estructura. Finalmente, se ha mostrado que las aferencias originadas en la amígdala basolateral, locus coeruleus y zona incerta, no participan en la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata -- (Ramirez et al., 1983; Ferrer, 1984).

En relación a las eferencias, se ha estudiado la participación de las proyecciones que la corteza prefrontal medial emite al hipotálamo lateral, núcleo accumbens y segmento anteromedial del caudadoputamen. En este sentido, la lesión electrolítica del hipotálamo lateral (Corbett et al., 1982), núcleo accumbens (Corbett et al., 1982) y segmento anteromedial del caudado putamen (Vives et al., 1986) no proce modificaciones significativas de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata. En contraste, una abolición de la autoestimulación de la corteza prefrontal medial ha sido obtenida por Corbett et al. (1982) tras la sección mecánica bilateral de las fibras existentes entre la corteza prefrontal medial y la corteza prefrontal sulcal.

Los estudios realizados en esta Tesis de Licen-

ciatura, y que a continuación se discuten, han tratado de dilucidar:

1.- La participación de las eferencias de la -- corteza prefrontal medial a la corteza prefrontal -- sulcal (surco rinal) en la autoestimulación de la -- corteza prefrontal medial.

2.- La participación de las eferencias de la - corteza prefrontal medial a la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y/o claustro en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.

3.- La participación de las eferencias a la corteza entorrinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.

1.- SOBRE LA PARTICIPACION DE LAS EFERENCIAS DE LA -
CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL AL LABIO SUPERIOR DEL
SURCO RINAL EN LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTEZA
PREFRONTAL MEDIAL.

Como ya ha sido mencionado anteriormente, Corbett et al. han mostrado que la sección mecánica bilateral de las fibras existentes entre la corteza prefrontal medial y la corteza prefrontal sulcal abole la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Por otra parte, Beckstead (1979) ha descrito que la corteza prefrontal medial envía un grueso contingente de axones a la corteza prefrontal sulcal ipsi y contralateral (aunque a esta última en menor proporción). En base a estos datos era probable que la abolición de la autoestimulación obtenida por Corbett et al. fuera debida a la lesión de las fibras que originadas en la CPM sinapsan con las neuronas existentes en la corteza prefrontal sulcal (neuronas intrínsecas). Por ello, en el 1º experimento, se estudiaron los efectos de la lesión selectiva de las neuronas intrínsecas a la corteza prefrontal sulcal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Para ello, se utilizó como agente neurotóxico el ac. kaínico, una neurotoxina que empleada a dosis precisas (3-11 nmoles), destruye selectivamente las neuronas del área inyectada, respetando las terminaciones axónicas presentes, así como las fibras de paso (Nagy et al., 1978; Schwarcz et al., 1980; Gerfen

y Clavier, 1981).

Estudios recientes, han mostrado que el ácido kaínico, dependiendo del volumen y dosis de inyección, produce lesiones distales al sitio de administración (Ben-Ari et al., 1979; Coley, 1983; Köhler y Schwarcz, 1983). Por ello, se tomaron una serie de precauciones:

1.- La dosis de ac. kaínico utilizada (8 nmoles) se situó en un punto medio del rango de dosis en el que ha sido descrita la lesión selectiva de esta neurotoxina sobre las neuronas del área inyectada (Bannon et al., 1980; Gerfen y Clavier, 1981; Childs y Gale, 1983; Ferrer et al., 1985).

2.- El volumen administrado (0.8 μ l) fue inferior al empleado en aquellos experimentos que describen lesiones distales al punto de inyección (Ben Ari et al., 1979). Además, Gerfen y Clavier (1981) han descrito que inyecciones de 1 μ l de volumen de ac. kaínico en la corteza prefrontal sulcal no produce lesiones en estructuras distales a la misma.

3.- Los animales fueron tratados con Diazepan previamente a la inyección de ac. kaínico, puesto que, se ha demostrado que el pretratamiento con Diazepan reduce las lesiones distales y bloquea los episodios epilépticos evocados por esta neurotoxina (Ben-Ari et al., 1979).

La inyección bilateral de ácido kaínico en la corteza prefrontal sulcal (surco rinal) no tuvo efectos sobre la autoestimulación de la corteza pre

frontal medial, salvo el 1^{er} día. Este descenso de la autoestimulación observado durante el 1^{er} día, parece ser debido a una alteración inespecífica del estado general de los animales, ya que, se acompaña de una disminución de la actividad motora espontánea y se recuperan rápidamente los valores control, tanto en autoestimulación como en actividad motora espontánea. Además, aunque en los animales empleados en este experimento no se apreciaron crisis convulsivas, se advirtió un estado de hiperactividad motora de una duración entre 12-36 horas. Todo ello sugiere que los efectos colaterales del ac. kaínico son los responsables de la atenuación de la autoestimulación observada durante el 1^{er} día postinyección.

El estudio histológico realizado mostró la lesión de todos los segmentos que conforman la corteza prefrontal sulcal, excepto la parte posteromedial de la porción insular (Krettet y Price, 1977a), observándose una intensa reacción glial, así como la existencia de una clara pignosis de los núcleos celulares en el área afectada. Además, el análisis histológico no mostró lesión en otras estructuras distales como caudado putamen, amígdala, hipocampo, tálamo o septum. La extensión de la lesión estuvo comprendida entre los planos A 11050 μ y A 9820 μ , lo que supone un 80 % de la extensión de la corteza prefrontal sulcal en la rata (Köning y Klippel, 1967). En todos los animales utilizados la lesión

se limitó al labio superior del surco rinal, excepto en dos. En estos dos animales se observó lesión en el labio superior e inferior, aún cuando la evolución fue similar a la del resto del grupo. Los resultados obtenidos sugieren que las neuronas intrinsecas a la corteza prefrontal sulcal (surco rinal) no participan en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial.

Dado que la lesión mecánica empleada por Corbett et al. (1982) no permite discernir si los resultados obtenidos se deben a la lesión de fibras que originándose en la corteza prefrontal medial sinapsan con neuronas intrinsecas a la corteza prefrontal sulcal o a fibras de paso a través de esta última estructura, el objetivo del siguiente experimento fue determinar la participación de fibras de paso a través de la corteza prefrontal sulcal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Para ello, se realizaron lesiones electrolíticas bilaterales de la corteza prefrontal sulcal (CPS) ya que no se dispone actualmente de una neurotoxina que destruya selectivamente fibras no monoaminérgicas. Tampoco en este caso se observaron, tras la lesión, modificaciones significativas de la autoestimulación.

La lesión electrolítica afectó a los segmentos orbital lateral y agranular insular ventral (excepto la parte posteromedial), es decir, al labio superior del surco rinal. Estos dos segmentos, confor-

man la corteza prefrontal sulcal en la rata (Leonard, 1969, 1972; Krettet y Price, 1977a). La extensión media de la lesión estuvo comprendida entre -- los planos estereotáxicos A 11050 μ y A 9820 μ , lo que supone un 80 % de la extensión de la corteza -- prefrontal sulcal (Köning y Klippel, 1967), salvando los planos más posteriores (9650 μ -9410 μ) que -- incluyen parte de la porción insular de la corteza prefrontal sulcal.

2.- SOBRE LA PARTICIPACION DE LAS EFERENCIAS A LA --
PORCION INSULAR DE LA CORTEZA PREFRONTAL SULCAL
Y/O CLAUSTRO EN LA AUTOESTIMULACION DE LA CORTE-
ZA PREFRONTAL MEDIAL.

Los resultados obtenidos en los dos experimentos anteriores parecen indicar que el surco rinal no participa en la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. Sin embargo, en una rata, cuyo análisis histológico mostró una lesión más medial y más posterior al resto del grupo, afectando la porción insular de la corteza prefrontal sulcal, así como la porción anterior de claustró, se observó una abolición mantenida de la autoestimulación que no se acompañó de modificaciones significativas de la actividad motora espontánea.

Es interesante constatar que, tanto el claustró como la porción insular de la corteza prefrontal sulcal establecen, igualmente, conexiones reciprocas -- con la corteza prefrontal medial (Beckstead, 1979; - Dalssas et al., 1981; Vives et al., 1983).

El objetivo del 3^{er} experimento fue determinar - la participación de las estructuras neurales presentes en la porción insular de CPS y/o claustró en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. -- Para ello, se realizaron lesiones electrolíticas bilaterales de ambas estructuras, ya que los resultados iniciales no permitían discernir si la abolición mantenida de la autoestimulación era debida a la lesión de neuronas intrínsecas o a la lesión de fibras de paso, y era más importante reproducir el efecto - para después responder a qué era debido exactamente.

En las lesiones piloto se observó que, junto a las estructuras anteriormente mencionadas, se lesiona tanto cápsula externa y parte anterior de la rodilla del cuerpo calloso, como la porción anteroexterna del núcleo caudodoputamen. Esta última estructura está íntimamente involucrada en el control extrapiramidal de la actividad motora (Rolls et al., 1980). - Así, se ha sugerido que la cabeza del neostriado, - que incluye el segmento anteroexterno, contiene neuronas implicadas en la orientación del animal hacia estimulos del entorno y en la iniciación de una respuesta determinada como, por ejemplo, la ingesta de comida y de bebida (Rolls et al., 1980). Por ello, lesio

nes localizadas en este área pueden producir no sólo una disfunción sensoriomotora del animal, sino también una dificultad en el inicio de una conducta operante como la necesaria para la obtención de autoestimulación cerebral. En esta situación experimental era posible que una disminución de la tasa de autoestimulación en la corteza prefrontal medial tras la lesión del segmento anteroexterno del caudado-putamen pudiera ser debida, tanto a un efecto específico sobre los substratos neurales de la autoestimulación como a un impedimento motor del animal. Para poder discernir la naturaleza de los efectos obtenidos se empleó como control una actividad motora operacional similar a la que realiza la rata para obtener autoestimulación cerebral. Además, tal control debe conseguir que en ambas conductas operantes el animal apriete la palanca un número de veces similar, como en efecto se obtuvo en estos experimentos (ver sección 3.2. de Material y Métodos). De esta forma, si el animal es capaz de realizar la actividad motora para obtener bebida, y sin embargo, no es capaz de realizarla para obtener autoestimulación, podremos concluir que el descenso de la autoestimulación no se debe a un impedimento motor del animal.

Tras la lesión, se observó una abolición mantenida de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial. La actividad motora operacional sólo mostró un descenso estadísticamente significativo los días 1, 3 y 5 para volver posteriormente a los valores --

control. Estos resultados sugieren que la abolición de la autoestimulación observada no se debe a un impedimento motor u otro tipo de afectación del estado general de los animales, como lo prueba el hecho de que la rata es capaz de realizar la misma actividad motora para obtener bebida.

La lesión electrolítica, en este caso, afectó a los segmentos agranular insular ventral y dorsal, y a la parte anterior de claustró. La extensión de la lesión estuvo comprendida entre los planos estereotáxicos A 10300 μ y A 7890 μ (König y Klippel, 1967).

Los resultados obtenidos en este experimento -- muestran la participación de neuronas y/o fibras de paso a través de la porción insular de CPS y/o claustró en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Ahora bien, mediante este procedimiento (lesión electrolítica) no se puede determinar, como hemos visto en los experimentos anteriores, la participación selectiva de los distintos elementos neurales presentes en estas estructuras. Precisamente, -- con el objeto de dilucidar este punto se diseñó el -- 4º experimento, cuyo objetivo fue dilucidar la -- participación de las neuronas intrínsecas a la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y/o -- claustró en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. En él, se realizaron inyecciones bilaterales de ac. kaínico, neurotoxina que, como ha -- sido referido anteriormente, destruye selectivamente

neuronas intrínsecas a una estructura (Hattori y Mc-Geer, 1977; Gerfen y Clavier, 1981; Nassif et al., - 1984).

Estudios recientes, ya mencionados más arriba, han mostrado que el ácido kaínico produce lesiones - distales al sitio de administración mientras que la lesión producida por el ac. iboténico (una neurotoxina, descrita recientemente, con efectos similares al ac. kaínico) parece limitarse al lugar de administración (extremo de la cánula inyectora) (Ben-Ari et al., 1979; Coley, 1983; Köhler y Schwarcz, 1983). Aún --- cuando el ac. kaínico es de 5-10 veces más tóxico -- que el ácido iboténico, es interesante que las células del septum medial y del locus coeruleus muestran resistencia a lesionarse por el ac. kaínico mientras que pueden ser selectivamente lesionadas por el ac. iboténico. Además, en algunas células del cerebro como hipocampo y septum, la subceptibilidad de las neuronas al ácido kaínico no es uniforme mientras que - sí es uniforme la vulnerabilidad de estas mismas neuronas al ac. iboténico (Köhler y Schwarcz, 1983). Estos hallazgos, junto con las diferencias en la evolución de la degeneración neuronal producida por estas neurotoxinas, apoyan la sugerencia de que el ac. kaínico y el iboténico ejercen su acción excitotóxica - por mecanismos distintos. Sin embargo ambas neurotoxinas coinciden en sus efectos sobre el cerebelo --- (afectan principalmente a las células granulares) y sobre el núcleo arcuato del hipotálamo y núcleo del

V par (ambos núcleos son muy resistentes a las dos -- neurotoxinas) (Köhler y Schwarcz, 1983). Todos estos datos parecen avalar el empleo del ac. iboténico en lugar del ac. kaínico. Por ello, aún cuando la inyección bilateral del ac. kaínico no produjo efectos significativos (salvo el 1^{er} día postinyección), se inyectó, además, ac. iboténico en dos ratas para corroborar los resultados obtenidos. La dosis de ac. iboténico empleada (4 µgr/ 0.5 µl) coincide con las utilizadas por otros autores (Nassif et al., 1985; Lestang et al., 1985; Velley et al., 1985).

Tras la inyección de ac. kaínico o iboténico, no se observaron modificaciones significativas de la autoestimulación ni tampoco de la actividad operacional. Es interesante que, mientras la inyección de ac. kaínico produjo un descenso significativo de ambos parámetros el 1^{er} día postinyección, este descenso no se observó tras la administración de iboténico. El descenso del 1^{er} día observado tras la inyección de ac. kaínico parece ser debido a los efectos colaterales de esta neurotoxina como ha sido referido anteriormente (ver apartado 1 de la Discusión).

Estos resultados sugieren que la abolición mantenida de la autoestimulación obtenida tras la lesión electrolítica, no es debida a la lesión de neuronas intrínsecas a la porción insular de CPS y/o claustró. La certeza de esta afirmación viene apoyada por el estudio histológico realizado. Este estudio mostró

la lesión de la porción insular de CPS y de la parte anterior de claustro, observandose una clara pignosis de los núcleos celulares y una intensa reacción glial. La extensión de la lesión estuvo comprendida entre los planos A 10300 μ y A 8620 μ .

3.- SOBRE LA PARTICIPACION DE LAS EFERENCIAS A LA --
CORTEZA ENTORRINAL EN LA AUTOESTIMULACION EN LA
CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL.

Beckstead (1979) ha señalado la existencia de una vía eferente que, originada en la corteza prefrontal medial (fundamentalmente en el área prelímbica), atraviesa la porción insular de la corteza prefrontal sulcal dirigiéndose caudalmente a la corteza entorrinal (especialmente a la porción lateral). Por otra parte, recientemente, Mora y Ferrer (1986) han propuesto a la corteza entorrinal como parte de un circuito presuntamente implicado en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Este circuito incluye: corteza prefrontal medial (CPM)- corteza entorrinal (CE)- área ventrosegmental del mesencéfalo (AVT)- corteza prefrontal medial. La presunción de que la corteza entorrinal pudiera, en parte, ser la responsable de la autoestimulación en la CPM se basa fundamentalmente en la existencia de la vía fugal, antes mencionada, que originándose en la CPM --

atraviesa la porción insular de la CPS y desciende -- por cápsula externa y extrema para dirigirse a la -- corteza entorrinal (Beckstead, 1979), así como en -- que la corteza entorrinal soporta autoestimulación -- (Collier et al., 1977). Recientemente, además, Ga--- llistel (comunicación personal) utilizando 2-desoxi-glucosa ha mostrado que, durante la autoestimulación en la CPM, parte del patrón de actividad neural, discurre por la vía prefronto-entorrinal. Finalmente, -- otro argumento en favor de la participación de la -- corteza entorrinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial es la existencia de proyec--- ciones desde la corteza entorrinal a la CPM (área -- prelímbica y área cingulada) y a la CPS (área insu-- lar) (Sørensen, 1985).

A la luz de estos datos, parecía probable que -- los efectos producidos por la lesión electrolítica -- bilateral de la porción insular de la CPS fuesen debidos a la lesión de las fibras que originándose en la CPM, atraviesan CPS para dirigirse, fundamental-- mente, a la porción lateral de la corteza entorrinal.

El objetivo del 5º experimento fue, por tanto, dilucidar la participación de la vía prefronto-entorrinal en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial. Para ello, se realizaron lesiones electrolíticas bilaterales de la corteza entorrinal. --- Tras la lesión no se observaron modificaciones significativas de la autoestimulación (salvo el 1º día).

Este descenso observado durante el 1^{er} día parece debido a una alteración inespecífica del estado general de los animales, puesto que, se acompaña de una disminución de la actividad motora espontánea y ambas se recuperan totalmente para llegar a niveles -- control.

La lesión electrolítica afectó a la porción lateral de la corteza entorrinal y a parte de la porción medial. La extensión media de la lesión estuvo comprendida entre los planos estereotáxicos A 2790 μ y A 1270 μ , lo que supone un 90 % de la extensión de la porción lateral de la corteza entorrinal (Köning y Klippel, 1967).

Los resultados obtenidos en este experimento sugieren que la vía prefronto-entorrinal no participa en la autoestimulación de la corteza prefrontal medial de la rata. En este sentido, recientemente Ferrer et al. (comunicación personal) han mostrado que tras la inyección de peroxidasa de rábano en la corteza entorrinal escasas neuronas son marcadas en la corteza prefrontal medial, lo que coincide con estudios previos realizados por Beckstead (1978) con --- peroxidasa. En contraste, Beckstead (1979) tras la inyección de aminoácidos marcados en la corteza prefrontal medial describe la existencia de una vía --- que desde dicha estructura se dirige caudalmente a la corteza entorrinal (como ha sido mencionado anteriormente). El que estudios anterógrados (inyección de

aminoácidos marcados) muestren la existencia de la vía prefronto-entorrinal, mientras que estudios retrógrados (peroxidasa) apenas la evidencian hace pensar que esta vía originada en la corteza prefrontal medial, va dejando colaterales en diferentes estructuras, llegando finalmente pocas terminales a corteza entorrinal.

Es interesante que, Beckstead (1979) tras la inyección de aminoácidos marcados, ha mostrado que las conexiones corticales y subcorticales de la corteza prefrontal medial se vehiculizan por diferentes vías. Así, las fibras corticosubcorticales penetran en cápsula interna y se dirigen al n. caudado-putamen, septum, amígdala, tálamo, región subtalámica, hipotálamo, pretectum, colículo superior, sustancia gris central, midbrain y pontine tegmentum y núcleos pontinos, mientras que las conexiones corticocorticales viajan por el cíngulo y se dirigen a la corteza retroesplénica, presubiculum, corteza perirrinal y entorrinal. Además, las conexiones corticocorticales de la CPM también se vehiculizan por diferentes vías:

- 1.- Un grueso contingente de fibras se dirige a la corteza prefrontal sulcal y algunas de ellas atraviesan dicha estructura y descienden por cápsula externa y extrema, para dirigirse a las cortezas perirrinal y entorrinal.
- 2.- Otro grupo de fibras viaja por el cíngulo y

proyecta sobre el área cingulada anterior y sobre el área retroesplenial, y a nivel del splenium del cuerpo calloso giran para dirigirse al área 29 de Broadman y al presubiculum.

- 3.- Y por último, un considerable número de axones cruzan la parte dorsal del cuerpo calloso y se distribuyen en el hemisferio contralateral siguiendo un patrón esencialmente igual al patrón ipsilateral, pero cuya densidad de fibras es menor.

Dado que la lesión observada en el 3^{er} experimento afecta no sólo la porción insular de la corteza prefrontal sulcal y claustro, sino que también afecta tanto a cápsula externa como a la parte anterior de la rodilla del cuerpo calloso, es posible que la abolición de la autoestimulación observada se deba a la lesión de estas últimas estructuras, ya que se encuentran en la encruzijada de salida de eferencias de la corteza prefrontal medial a estructuras corticales ipsi y contralaterales (fibras englobadas en los apartados 1 y 3 mencionados anteriormente). En este sentido, es interesante que Corbett et al. ---- (1982) tras la sección mecánica unilateral de las conexiones existentes entre CPM y CPS, encuentra sólo una disminución temporal de la autoestimulación y se recuperan los valores control a los 7 días postle---sión, mientras que tras la sección bilateral observan una abolición mantenida de la autoestimulación.

Esto puede ser debido a que las fibras que cruzan al hemisferio contralateral (fibras englobadas en el -- apartado 3) se escapan a los cortes unilaterales y -- son capaces de mantener la autoestimulación.

Todos estos datos sugieren, por tanto, que las proyecciones corticocorticales ipsi y contralaterales pudieran, al menos en parte, ser las responsables de la autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta Tesis de Licenciatura nos han permitido llegar a las siguientes -- conclusiones:

- 1ª. Las neuronas intrínsecas a la corteza prefrontal sulcal (área olfatoria lateral y área insular) - no participan en el substrato neural de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata.
- 2ª. La vía prefronto-entorrinal no participa en el - substrato neural de la autoestimulación en la -- corteza prefrontal medial.
- 3ª. Las proyecciones corticocorticales ipsi y contra laterales parecen formar parte del substrato neural de la autoestimulación en la corteza prefrontal medial de la rata.

BIBLIOGRAFIA

Ball GG, Micco DJ Jr., Berntson GG. Cerebellar stimulation in the rat: complex stimulation-bound oral behaviors and selfstimulation. Physiol. Behav., 13: 123 - 127 (1974).

Bannon, MI, Bunney EB, Zigun JR, Skirboll LR, Roth. Presynaptic dopamine receptors: Insensitivity to kainic acid and the development of supersensitivity following chronic haloperidol. Arch. Pharmacol., 321: 161 - 165 (1980).

Baungarten HG, Bjorklund A, Horn AS, Schlossberger HG. Studies on the neurotoxic properties of hydroxylated tryptamines. En: Dynamics of Degenerations and Growth in Neurons. K Fuxe, L Olsen, Y Zotterman (eds.), Pergamon, Oxford: 153 - 167 (1974).

Beckstead RM. Afferent connections of the entorhinal area in the rat as demonstrated by retrograde cell - labelling with horseradish peroxidase. Brain Res., 152: 249 - 264 (1978).

Bekstead RM. An autoradiographic examination of the corticocortical and subcortical projections of the mediodorsal - projection (prefrontal) cortex in the rat. J. Comp. Neurol., 184: 43 - 62 (1979).

Belluzzi JD, Ritter S, Wise CD, Stein L. Substantia nigra selfstimulation: dependence on noradrenergic reward pathways. Behav. Biol., 13: 103 - 111 (1975).

Ben-Ari Y, Tremblay E, Otterson DP, Naquet R. Evidence suggesting secondary epileptogenic lesions after kainic acid: pretreatment with diazepam reduces distant but not local brain damage. Brain Res., 165: 362 - 365 (1979).

Berger B, Tassin JP, Blanc G, Moyne V, Thierry AM. - Histochemical confirmation for dopaminergic innervation of the rat cerebral cortex after destruction of the noradrenergic ascending pathways. Brain Res., 81: 332 - 337 (1974).

Berger B, Thierry AM, Tassin JP, Moyne MA. Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex: a fluorescence histochemical study. Brain Res., 106: 133 -145 (1976).

Boyd ES, Celso MB. Effect of some brain lesions on septal intracranial self-stimulation in the rat. Am. J. Physiol., 219: 734 - 741 (1970).

Boyd ES, Gardner LC. Positive and negative reinforcement from intracranial self-stimulation in teleost. Science, 136: 648 (1962)

Boyd ES, Gardner LC. Effect of some brain lesions on intracranial self-stimulation in the rat. Am. J. Physiol., 213: 1044 - 1052 (1967).

Brady JV. Temporal and emotional effects related to intracranial electrical self-stimulation. En: - Electrical Studies on the Unanesthetized Brain. E Ramsey, D O'Doherty (eds.), New York, Hoeber: 52 - 57 (1960).

Brady JV, Conrad DG. Some effects of limbic system - self-stimulation upon conditioned emotional behaviour. J. Comp. Physiol. Psychol., 53: 128 - 137 (1960).

Breese GR, Cooper BR. Relationship of dopamine neural systems to the maintenance of self-stimulation. En: Neutransmitters and Behaviour. C. Domino, J Davis (eds.), Edward Bros, Ann Arbor Mich: 37 - 56 (1975).

Broadman K. Vergleichende Lokalisations lehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues. JA Barth, Leipzig (1909).

Broekkamp CL, Phillips AG. Facilitation of self-stimulation behavior Following intracerebral microinjections of opioids into the ventral tegmental area. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 11: 289 - 295 (1979).

Bruner A. Facilitation of classical conditioning in rabbits by reinforcing brain stimulation. Psychon. Sci., 6: 211 - 212 (1966).

Bunney BS, Aghajanian GK. Dopamine and norepinephrine innervated cells in the rat prefrontal cortex: pharmacological differentiation using microiontophoretic techniques. Life Sci., 19: 1783 - 1792 (1976).

Burton MJ, Rolls ET, Mora F, Cooper SJ. Neurophysiological mapping of self-stimulation pathways in the monkey. Brain Res. In press. (1976).

Childs JA, Gale K. Neurochemical evidence for a nigro tegmental GABAergic projection. Brain Res., 258: 109 - 114 (1983).

Clavier RM. Afferent projections to the self-stimulation regions of the dorsal pons, including the locus coeruleus, in the rat as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. Brain Res. Bull., 4: 497 - 504 (1979).

Clavier RM, Corcoran ME. Attenuation of self-stimulation from substantia nigra but not dorsal tegmental noradrenergic bundle by lesions of sulcal prefrontal cortex. Brain Res., 113: 59 - 70 (1976).

Clavier RM, Fibiger HC. On the role of ascending catecholaminergic projections in intracranial self-stimulation of the substantia nigra. Brain Res., 131: 271 - 286 (1977).

Clavier RM, Fibiger HC, Phillips AG. Evidence that self-stimulation of the region of the locus coeruleus in rats does not depend upon noradrenergic projections to telencephalon. Brain Res., 113: 71 - 81 (1976).

Clavier RM, Gerfen CR. Self-stimulation of the sulcal prefrontal cortex in the rat: direct evidence for ascending dopaminergic mediation. Neurosci. Letters, 12: 183 - 187 (1979).

Clavier RM, Gerfen ChR. Intracranial self-stimulation in the thalamus of the rat. Brain Research Bull., 8: 353 - 358 (1982).

Clavier RM, 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 (1975).

Collier VT, Kurtman S, Routtenberg A. Intracranial - self-stimulation derived from entorhinal cortex. Brain Res., 137: 188 - 196 (1977).

Cooper RM, Taylor LH. Thalamic reticular system and - central gray: self-stimulation. Science, 156: - 102 - 103 (1967).

Coley JT. Neurotoxic actions of kainic acid. Journal of Neurochemistry, 41: 1 - 11. Raven Press, New York (1983).

Corbett D, Laferrière A, Milner PM. Self-stimulation of the medial prefrontal cortex does not involve the medial forebrain bundle. Physiol. Behav., 29: 425 - 431 (1982).

Corbett D, Laferrière A, Milner PM. Elimination of medial prefrontal cortex self-stimulation following transection of efferents to the sulcal cortex in the rat. Physiology & Behavior, 29: 425 - 431 - (1982).

Corbett D, Silva LR, Stellar JR. An investigation of the factors affecting development of frontal cortex self-stimulation. Physiology and Behavior, - 34: 89 - 95 (1982).

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

Crow TJ. A map of the rat mesencephalon for electrical self-stimulation. Brain Res., 36: 265 - 273 (1972).

Cuello A, Kanazawa I. The distribution of substance P immunoreactive fibers in the rat central nervous system. J. Comp. Neurol., 178: 129 - 156 (1978).

Dahlstrom A, 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 (supl. 232): 1 - 80 - (1964).

Dalsass M, Kiser S, Mendershausen M, German DC. Medial prefrontal cortical projections to the region of the dorsal periventricular catecholamine system. Neuroscience, 6: 657 - 665 (1981).

Divac I, Kosmal A, Bjorklund A, Lindvall O. Subcortical projection to the prefrontal cortex in the rat as revealed by the horseradish peroxidase technique. Neuroscience, 3: 785 - 796 (1978).

Emson PC. Complementary distribution of dopamine, substance P and acetylcholine in the rat prefrontal cortex and septum. En: Advances in Biochemical Psychopharmacology. PJ Roberts (ed.), Raven Press, New York, vol. 19: 397 - 400 (1978).

Emson PC, Kcob G. The origin and distribution of dopamine-containing afferents to the rat frontal cortex. Brain Res., 142: 249 - 267 (1978).

Emson PC, Lindvall O. Distribution of putative neurotransmitters in the neocortex. Neuroscience, 4: 1 - 30 (1979).

Esposito R, Kornetsky C. Morphine lowering of self-stimulation thresholds; lack of tolerance with long-term administration. Science, 195: 189 - 191 (1977).

Fekete M, Lengyrl A, Hegedüs B, Rentzsch A, Schwarzberg H, Telegdy G. Effects of cholecystokinin octapeptides on avoidance and self-stimulation behaviour of rats. Neurosci. Letters, suppl. 14: 113 (1983).

Ferrer JMR, Sanguinetti AM, Vives F, Mora F. Effects of agonists and antagonists of D1 and D2 dopamine receptors on self-stimulation of the medial prefrontal cortex in the rat. Pharmacol. Biochem. Behav., 19: 211 - 217 (1983).

Ferrer JMR. Bases neurales de la autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Granada (1984).

Ferrer JMR., Myers RD, Mora F. Suppression of self-stimulation of the medial prefrontal cortex after local micro-injection of kainic acid in the rat. Brain Res. Bull., 15: 01 - 04 (1985).

- Fibiger HC. Drugs and reinforcement mechanism. A critical review of the catecholamine theory. Ann. - Rev. Pharmacol. Toxicol., 18: 37 - 56 (1978).
- Fink RP, Heimer L. Two methods for selective silver - impregnation of degenerated axons and their synaptic ending in the central nervous system. Brain Res., 4: 369 - 374 (1967).
- Fuster JM. The prefrontal cortex. Anatomy, physiology and neuropharmacology of the prefrontal lobe. Raven Press, New York (1980).
- Fuxe K, Goldstein M, Hökfelt T, Jonhson G, Lidbrink P. Dopaminergic involvement in hypothalamic function: extralaminar and hypothalamic control. A neuroanatomical analysis. Advanc. Neurol., 5: 405 - 419 (1974).
- Fuxe K, Hamberger B, Hökfelt O. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. Brain Res., 8: 125 (1968).
- Gallistel CR, Rolls ET, Greene D. Neuron function inferred from behavioural and electrophysiological - estimates of refractory period. Science, 166: 1028 - 1030 (1969).
- Gerfen ChR, Clavier RM. Intracranial self-stimulation from the sulcal prefrontal cortex in the rats: - the effect of 6-hydroxydopamine or kainic acid - lesions at the site of stimulation. Brain Res., 224: 291 - 304 (1981).

- German DC, Bowden DM. Catecholamine systems as the -
neural substrate for intracranial self-stimula--
tion: a hypothesis. Brain Res., 73: 381 - 419 -
(1974).
- Gibson S, McGregor EG, McGear PL. Effect of selective
inhibitors of tyrosine and trypto--
phan hydroxylases on self-stimulation in the rat.
Exp. Neurol., 27: 283 - 290 (1970).
- Goldstein JM, Malick JB. Effect of substance P on me--
dial fore-brain bundle self-stimulation in rats
following intracerebral administration. Pharma--
col. Biochem. Behav., 7: 475 - 478 (1977).
- Goodman IJ, Brown JL. Stimulation of positively and -
negatively reinforcing sites in the avian brain.
Life Sci., 5: 693 - 704 (1966).
- Graham RC, Karnowsky MJ. The early stages of absorp--
tion of injected horseradish peroxidase in the -
proximal tubules of mouse kidney: ultrastructu--
ral cytochemistry by a new technique. J. Histo--
chem. Cytochem., 14: 291 - 302 (1966).
- Grossman SP. The biology of motivation. Ann. Rev. Psy
chol., 30: 209 - 242 (1979).
- Hall RD, Bloom FE, Olds J. Neuronal and neurochemical
substrates of reinforcement. Neurosci. Res. Prog.
Bull., 15: 141 - 314 (1977).
- Hattori T, McGeer EG. Fine structural changes in the
rat striatum after local injections of kainic --
acid. Brain Res., 129: 174 - 180 (1977).

Heilbronn E. Muscarinic acetylcholine receptor. Progress in Neurobiology, 11: 171 - 188 (1978).

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

Hopkins DA. Hypothalamic and brain stem connections - of self-stimulation pathways studied using the - retrograde intraaxonal transport of horseradish peroxidase in the rat. En: Brain Stimulation Reward. A. Wauquier, ET Rolls (eds.), North Ho---- lland, Amsterdam: 53 - 56 (1976).

Huang YH, Routtenberg A. Lateral hypothalamic self-stimulation pathways in rattus norvegicus. Physiol. Behav., 7: 419 - 432 (1971).

Huston JP, Boberly A. Operant conditioning in fore--- brain ablated rats by use of rewarding hypothalamic stimulation. Brain Res., 50: 467 - 472 (1973)

Ichitani Y, Iwasaki T, Satoh T. Effects of Naloxone - and Chlordiazepoxide on lateral hypothalamic self-stimulation in rats. Physiol. Behav., 34: 779 - 782 (1985).

Ito M, Olds J. Unit activity during self-stimulation behavior. J. Neurophysiol., 34: 263 - 273 (1971).

Iversen LL, Quirk M, Emson PC, Dowling JK, Watling KJ. Further evidence for the existence of multiple - receptors for dopamine in the central nervous - system. Receptors for neurotransmitters and peptide hormones. Raven Press, New York (1980). •

- Jung OH, Boyd ES. Effects of cholinergic drugs on self-stimulation response rates in rats. Am. Physiol., 210: 432 - 434 (1966).
- Kant KJ. Influences of amygdala and medial forebrain bundle in self-stimulation of the septum. Physiol. Behav., 4: 777 - 784 (1969).
- Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. Nature, 277: 93 - 96 (1979).
- Keesey RE, Powley TL. Enhanced lateral hypothalamic reward sensitivity following septal lesions in the rat. Physiol. Behav., 3: 557 - 562 (1968).
- Keith BJF, Vaccarino FJ. Differential effects of amphetamine isomers on SN self-stimulation: evidence for DA neuron subtypes. Pharmacol. Biochem. Behav., 18: 747 - 751 (1983).
- Kelley AE, Stinus L, Iversen SD. Interaction between D-ala-met-enkephalin, A 10 dopaminergic neurones and spontaneous behaviour in the rat. Behav. Brain. Res., 1: 24 (1980).
- Kelly PH. The physiological basis of reward and punishment. D. Phil. Thesis, Oxford University (1974).
- Klüver H, Barrera E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 12: 400 - 403 (1953).
- Köhler C, Schwarcz R. Comparison of ibotenate and kainate neurotoxicity in rat brain: A histologi-

- cal study. Neuroscience, 8: 819 - 835 (1983).
- Kolb B. Functions of frontal cortex of the rat: A comparative review. Brain Research Reviews, 8: 65 - 98 (1984).
- König JFR, Klippel RA. The rat brain. Krieger, Huntington, New York (1967).
- Kostrzewa RM, Jacobowitz DM. Pharmacological actions of 6-hydroxydopamine. Pharmacol. Rev., 26: 199 - 288 (1974).
- Krettek JE, Price JL. Projections from the amygdaloid complex to the cerebral cortex and thalamus in the rat and cat. J. Comp. Neur., 172: 687 - 722 (1977 b).
- Krettek JE, Price JL. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. J. Comp. Neurol., 171: 157 - 191 (1977 a).
- Krieger DT. Brain peptides: what, where, and why?. - Science, 222: 957 - 985 (1983).
- Leonard CM. The prefrontal cortex of the rat. I: cortical projections of the mediodorsal nucleus. - II: efferent connections. Brain Res., 12: 321 - 343 (1969).
- Leonard CM. The connections of the dorsomedial nuclei. Brain, Behav. and Evol., 6: 524 - 541 (1972).

Lestang I, Cardo B, Roy MT, Velley L. Electrical self-stimulation deficits in the anterior and posterior parts of the medial forebrain bundle after ibotenic acid lesion of the middle lateral hypothalamus. Neuroscience, 15: 379 - 388 (1985).

Liebman J, Segal SD. Differential effects of morphine and d-amphetamine on self-stimulation from closely adjacent regions in rat midbrain. Brain Res., 136: 103 - 117 (1977).

Lilly JC, Miller AM. Operant conditioning of the bottlenose dolphin with electrical stimulation of the brain. J. Comp. Physiol. Psychol., 55: 73 - 79 (1962).

Lindvall O. Mesencephalic dopaminergic afferents to the lateral septal nucleus of the rat. Brain Res., 81: 325 - 331 (1974).

Lindvall O, Björklund A. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. Acta Physiol. Scand., Supl. 412: 1 - 48 (1974).

Linvall O, Björklund A, Moore RY, Steveni U. Mesencephalic dopamine neurons projecting to neocortex. Brain Res., 81: 325 - 331 (1974).

Lorens SA. Comparison of the effects of morphine on hypothalamic and medial frontal cortex self-stimulation in the rat. Psychopharmacology, 48: 217 - 224 (1976).

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, Alba F, Sanguinetti AM, Rodríguez JM, 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: 223 - 225 (1980).

Mora F, Avrith AD, Phillips AG, Rolls ET. Effects of satiety on self-stimulation of the orbitofrontal cortex in the rhesus monkey. Neurosci. Letters, 13: 141 - 145 (1979).

Mora F, Ferrer JMR. Neurotransmitters pathways and - circuits as the neural basis of self-stimulation of the prefrontal cortex in the rat: facts and speculations. En: "The neuronal basis of reward and aversion". Beh. Brain Res. special issue - (1986). In press.

Mora F, Myers RD. Brain self-stimulation direct evidence for the involvement of dopamine in the - prefrontal cortex. Science, 197: 1367 - 1389 - (1977).

Mora F, Myers RD, Sanguinetti AM. Self-stimulation - of the MFB or VTA after microinjection of haloperidol into the prefrontal cortex of the rat. Pharmacol. Biochem. Behav., 6: 236 - 241 (1977).

Mora F, Phillips AG, Koob JM, Rolls ET. 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 ET, Burton MJ, Shaw SG. Effects of dopamine-receptor blockade on self-stimulation on the monkey. Pharmacol. Biochem. Behav., 4: 211 - 216 (1976 b).

Mora F, Sanguinetti AM, Rolls ET, Shaw SG. Differential effects on self-stimulation and motor behaviour produced by microintracranial injections of a dopamine receptor blocking agent. Neurosci. Letters, 1: 179 - 184 (1975).

Mora F, Sweeney F, Rolls ET, Sanguinetti AN. Spontaneous firing rate of neurones in the prefrontal cortex of the rat: evidence for a dopaminergic inhibition. Brain Res., 116: 516 - 522 (1976 c).

Morales A. Autoestimulación y corteza prefrontal de la rata: efectos de la lesión electrolítica de los núcleos NDMT, CP, LC y AVT. Memoria de Licenciatura, Facultad de Medicina, Universidad de Granada (1982).

Nagy JJ, Vicent SR, Lehman J, Fibiger HC, McGeer EG. The use of kainic acid in the localization of enzymes in the substantia nigra. Brain Res., 149: 431 - 441 (1978).

Nakajima S. Effects of intracranial chemical injections upon self-stimulation in the rat. Physiol. Behav., 8: 741 - 746 (1976).

Nakajima S, McKenzie GM. Reduction of the rewarding effect of brain stimulation by a blockade of dopamine D₁ receptor with SCH 23390. Pharmacol - Biochem Behav., 24: 919 - 923 (1986).

Nassif S, Cardo B, Libersat F, Velley, L. Role of intrinsic neurons in brain stimulation reward: impairment of lateral hypothalamic and prefrontal cortex self-stimulation after ibotenic acid lesions. Neurosci. Letters, Supl. 18: 128 (1984).

Nassif S, Cardo B, Libersat F, Velley L. Comparison of deficits in electrical self-stimulation after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus and the medial prefrontal cortex. Brain - Research, 332: 247 - 257 (1985).

Nazzaro JM, Seeger TF, Gardner EL. Morphine differentially effects ventral tegmental and substantia nigra brain reward thresholds. Pharmacol. Biochem. Behav., 14 325 - 331 (1981).

Olds J. Differentiation of rewards systems in the brain by electrical self-stimulation techniques. En: Electrical Studies on the Unanesthetized Brain. ER Ramsey, DS O'Doherty (eds.), Paul Holber, New York (1960).

Olds J. Hypothalamic substrates of reward. Physiol. Rev., 42: 554 - 604 (1962).

Olds J. Reward and drive neurons. En: Brain-Stimulation Reward. A Wauquier, ET Rolls (eds.), North Holland, Amsterdam: 1 - 27 (1976).

- Olds J. Drives and Reinforcements. Raven Press, New York (1977).
- Olds J, 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, Olds ME. Drives, rewards, and the brain. En: New Directions in Psychology II. F. Barron, VC Dement (eds.). Holt Rinehart and Winston, New York (1965).
- Olds J, Travis RP. Effects of chlorpromazine, meprobamate, pentobarbital and morphine on self-stimulation. J. Pharmacol. Exp. Ther., 128: 397 - 404 (1960).
- Olds ME, Domino EF. Comparison of muscarinic and nicotinic cholinergic agonist on self-stimulation - behavior. J. Pharmacol. Exp. Ther., 166: 189 - 204 (1969).
- Olds ME, Fobes JJ. The central basis of motivation: intracranial self-stimulation studies. Ann. Rev. Psychol., 32 523 - 574 (1981).
- Olds ME, Olds J. Approach-avoidance analysis of rat diencephalon J. Comp. Neurol., 120: 259 - 295 - (1963).
- Olds ME, Olds J. Effects of lesions in medial fore--brain bundle on self-stimulation behavior. Am. J. Physiol., 217: 1253 - 1264 (1969).

Olds ME, Williams KN. Self-administration of D-alanet enkephalimide at hypothalamic self-stimulation sites. Brain Res., (1980). In press.

Paxinos G, Emson PC, Cuello AC. The substance P projections to the frontal cortex and the substantia nigra. Neurosci. Letters, 7: 127 - 132 (1978)

Phillips AG, Carter DA, Fibiger HC. Dopaminergic substrates of intracranial self-stimulation in the caudate-putamen. Brain Res., 104: 221 - 232 (1976).

Phillips AG, Fibiger HC. Dopamine and noradrenergic substrates of positive reinforcement: differential effects of d-and-l-amphetamine. Science, 179: 575 - 577 (1973).

Phillips AG, Fibiger HC. 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 AG, Mogenson GJ. Self-stimulation of the olfactory bulb. Physiol. Behav., 4: 196 - 197 (1969).

Phillips AG, Mora F, Rolls ET. Intracranial self-stimulation in orbitofrontal cortex and caudate nucleus of rhesus monkey: effects of apomorphine, pimozide and spiroperidol. Psychopharmacology, 62: 79 - 82 (1979).

- Phillips AG, Mora F, Rolls ET. Intracerebral self-administration of amphetamine by rhesus monkeys. Neurosci. Letters, 24: 81 - 86 (1981).
- Phillipson OT, González CB. Distribution of axons - showing neurophysing-like immunoreactivity in - cortical and anterior basal forebrain sites. - Brain Res., 258: 33 - 44 (1983).
- Poschel BPH, Ninteman FW. Intracranial reward and the forebrain's serotonergic mechanism: studies employing para-chlorophenylalanine and para chloramphetamine. Physiol. Behav., 7: 39 - 46 - (1971).
- Pradhan SN. Balance of central neurotransmitter actions in self-stimulation behavior. En: Brain-Stimulation Reward. A Wauquier, ET Rolls (eds.), North Holland, Amsterdam: 171 - 186 (1976).
- Pradhan SN, Kamata KA. Action of cholinergic agonist and antagonist on self-stimulation. Arch. Int. Pharmacodyn., 196: 321 - 329 (1972).
- Predy PA, Kokkinidis L. Sensitization to the effects of repeated amphetamine administration on intracranial self-stimulation: evidence for changes in reward processes. Beh. Brain Res., 13: 251 - 259 (1984).
- Quirion R, Gaudreau P, St-Pierre S, Rioux F, Pert CB. Autoradiographic distribution of (³H) neurotensin receptors in rat brain: visualization by tritium-sensitive film. Peptides, 3: 757 - 763 (1982).

- Ramirez M. Monoaminas y autoestimulación en la corteza prefrontal de la rata. Memoria de Licenciatura, Facultad de Medicina, Universidad de Granada (1981).
- Ramirez M, Alba F, Vives F, Mora F, Osorio C. Monoamines and self-stimulation of the medial prefrontal cortex in the rat. Rev. Esp. Fisiol., - 39: 351 - 356 (1983).
- Ritter S, Stein L. Self-stimulation of noradrenergic cell group (A 6) in locus coeruleus of rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 85: 443 - 452 (1973).
- Reiner A. Is the prefrontal cortex found only in mammals?. En: TINS. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam: 298 - 300 (1986).
- Roberts WW. 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).
- Robertson A, Mogenson GJ. Facilitation of self-stimulation of the prefrontal cortex in rats following chronic administration of spiroperidol or amphetamine. Psychopharmacology (Berlin), 65: - 149 - 154 (1979).
- Roll SK. Intracranial self-stimulation and wakefulness: effects of manipulating ambient catecholamines. Science, 168: 1370 - 1372 (1970).
- Rolls ET. Neural mechanism of intracranial self-sti-

mulation in the rat. D. Phil. Thesis. Oxford - Univ. (1971).

Rolls ET. Activation of amygdaloid neurones in reward, eating and drinking elicited by electrical stimulation of the brain. Brain Res., 45: - 365 - 381 (1972).

Rolls ET. The neuronal basis of brain stimulation reward. Proc. in Neurobiol., 3: 71 - 160 (1974).

Rolls ET. The Brain and Reward. Pergamon Press, Oxford (1975).

Rolls ET. The neurophysiological basis of brain stimulation reward. En: Brain-Stimulation Reward. A Wauquier, ET Rolls (eds.), North Holland, Amsterdam: 65 - 87 (1976).

Rolls ET, Cooper SJ. Activation of neurones in the prefrontal cortex by brain stimulation reward in the rat. Brain Res., 60: 351 - 368 (1973).

Rolls ET, Cooper SJ. Anesthetization and stimulation of the sulcal prefrontal cortex and brain stimulation reward. Physiol. Behav. 12: 563 - 571 - (1974).

Rolls ET, Burton MJ, Mora F. Neurophysiological analysis of brain-stimulation reward in the monkey. Brain Res., 194: 339 - 357 (1980).

Rose JE, Woolsey CN. 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).

Routtenberg A. Forebrain pathways of reward in *rattus norvegicus*. J. Comp. Physiol. Psychol., 75: 269 - 276 (1971).

Routtenberg A. Intracranial self-stimulation pathways as substrate for stimulus-responses integration. En: Efferent Organization and Integration of behaviour. JD Maser (eds.), Academic Press. (1973).

Routtenberg A. Self-stimulation pathways: origins and terminations a three-stage technique. En: Brain-Stimulation Reward. A Wauquier, ET Rolls (eds.), North Holland, Amsterdam: 31 - 39 (1976).

Routtenberg A. The reward system of the brain. Sci. Am., 239: 159 - 164 (1978).

Routtenberg A, Huang YH. Reticular portion and brain stem unitary activity: effects of posterior hypothalamic and septal-limbic stimulation and reward loci. Physiol. Behav., 3: 611 - 617 (1968).

Routtenberg A, Malsbury C. Brainstem pathways of reward. J. Comp. Physiol. Psychol., 68: 22 - 30 - (1969).

Routtenberg A, Sloan H. Self-stimulation in the prefrontal cortex of the *rattus norvegicus*. Behav. Biol., 7: 567 - 572 (1972).

Sakanaka M, Shiosaka S, Takatsuki K, Tohyama M. Evidence for the existence of a substance P-contai

ning pathway from the nucleus laterodorsalis -
tegmenti (Castaldi) to the medial frontal cor--
tex in the rat. Brain Res., 259: 123 - 126 -
(1983).

Sanguinetti AM. Bases dopaminérgicas de la autoesti-
mulación cerebral. Tesis doctoral (1979).

Sarter M, Markowitsch HJ. Cortical areas containing-
neurons with inter- and intrahemispheric projec-
tion: lack of collateralization and inter-hemis-
pherically projecting entorhinal neurons. Neu--
roscl. Letters, Supl. 18: 26 (1983).

Schenk S, Shizgal P. The substrates for self-stimula-
tion of the lateral hypothalamus and medial pre-
frontal cortex: A comparison of strength-dura-
tion characteristics. Physiol Behav., 34: 943 -
949 (1985).

Schwarz R, Fuxe K, Hökfelt T, Terenius L, Goldstein
M. Effects of chronic striatal kainate lesions
on some dopaminergic parameters and enkephalin
immunoreactive neurons in the basal ganglia. J.
Neurochem., 34: 772 - 778 (1980).

Segal M, Bloom FE. The action of norepinephrine on -
the rat hippocampus. III: activation of the im-
put pathway. Brain Res., 72: 99 - 114 (1974).

Segal M, Bloom FE. The action of norepinephrine in
the rat hippocampus III. Hippocampal cellular -
responses to locus coeruleus stimulation in the
awake rat. Brain Res., 107: 449 - 511 (1976 a)

- Segal M, Bloom FE. The action of norepinephrine in the rat hippocampus IV. The effects of locus -- coeruleus stimulation on evoked hippocampal unit activity. Brain Res., 107: 513 - 525 (1976 b).
- Sem-Jacobsen CW, Torkildsen A. Depth recording and electrical stimulation in the human brain. En: Electrical Studies on the Unanesthetized Brain. ER Ramsey, DS O'Doherty (eds.), Hoeber New York (1960).
- Shaw SG, Vives F, Mora F. Opioid peptides and self-stimulation of the medial prefrontal cortex in the rat. Psychopharmacology, 83: 288 - 292 (1984)
- Shute CCD, Lewis PR. The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. Brain, 90: 497 - 520 (1967).
- Sprengsen KE. Projections of the entorhinal area to the striatum, nucleus accumbens, and cerebral cortex in the Guinea Pig. The journal of comparative neurology, 238: 303 - 322 (1985).
- Sprick U, Muñoz C, Huston JP. Lateral hypothalamic self-stimulation persists in rats after destruction of lateral hypothalamic neurons by kainic acid or ibotenic acid. Neuroscience Letters, 56: 211 - 216 (1985).
- Stark P, Boyd ES. Effects of cholinergic drugs on hypothalamic self-stimulation response in dogs. Amer. J. Physiol., 205: 745 - 758 (1963).

Stein EA. Effects of intracranial self-stimulation - on brain opioid peptides. Peptides, 6: 67 - 73 (1985).

Stein L. Chemistry of reward and punishment. En: Psychopharmacology: A Review of Progress, 195 - 1967. D Efron (ed.), PHS Publ., n° 1836, Washington DC, GPO: 105 - 123 (1968).

Stein L. Reward transmitter: catecholamines and - opioid peptides. En: Psychopharmacology: A Generation of Progress M Lipton, A DiMascio, K Ki--llam (eds.), Raven, New York: 569 - 581 (1978).

Stein L, Belluzi JD. Brain endorphins: possible roles in reward memory information. Federation - Proc., 38: 2468 - 2472 (1979).

Stein L, Ray OS. Self-regulation of brain stimulating current intensity in the rat. Science, 130: 570 - 572 (1959).

Stengaard-Pedersen K, Larson LI. Comparative immunocytochemical localization of putative opioid ligands in the central nervous system. Histochemistry, 73: 89 - 114 (1981).

Tassin JP, Bockevt J, Blanc G, Stimus L, Thierry AM, Laviell S, Premont J, Glowinski J. Topographical distribution of dopaminergic innervation - and dopaminergic receptors of the anterior cerebral cortex of the rat. Brain Res., 154: 241 - 251 (1978).

Thierry AM, Blanc G, Sobel A, Stinus L, Glowinski J.
Dopaminergic Terminals in the rat cortex. Science, 182: 499 - 501 (1973).

Thierry AM, Tassin JP, Blanc G, Glowinski J. Topographic and pharmacological study of the mesocortical dopaminergic system. En: Brain-Stimulation reward. A Wauquier, ET Rolls (eds.), North Holland, Amsterdam: 290 - 293 (1976).

Unemoto, Olds ME. Citado en: Olds ME, Fobes JL. The central basis of motivation: intracranial self-stimulation studies. Ann. Rev. Psychol. 32: pag. 550 (1981).

Ungerstedt U. Stereotypic mapping of the monoamine pathways in the rat. Acta Physiol. Scand., suppl. 367: 1- 122 (1971).

Ursin R, Ursin H, Olds J. Self-stimulation of hippocampus in rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 61: 353 - 359 (1966).

Valenstein ES. Behavior elicited by hypothalamic stimulation. A prepotency hypothesis. Brain Behav. Evol., 2: 295 - 316 (1969).

Valenstein ES, Campbell JF. Medial forebrain bundle-lateral hypothalamic area and reinforcing brain stimulation. Am. J. Physiol., 210: 270 - 274 - (1966).

Van der Kooy D, Phillips AG. Trigeminal substrates of intracranial self-stimulation of the prefrontal

cortex. Fed. Proc., 39: 1095 (1977).

Vanderwolf CH, Gutman M, Baker CB. Hypothalamic self-stimulation: the role of dopamine and possible relations to neocortical slow wave activity. Behav Brain Res., 12: 9 - 19 (1984).

Velley L. Unilateral lesion of the intrinsic cells - in the medial fore brain bundle depresses self-stimulation but not stimulus-bound locomotor activity. Neuroscience Letters, 57: 199 - 204 - (1985).

Vives F, Gayoso Mj, Osorio C, Mora F. Afferent pathways to points of self-stimulation in the medial prefrontal cortex of the rat as revealed by the horseradish peroxidase technique. Behav. Brain Res., 8: 23 - 32 (1983).

Vives F, Mora F. Effects of agonists and antagonists of cholinergic receptors on self-stimulation of the medial prefrontal cortex of the rat. Gen Pharmac., 17: 63 - 67 (1986).

Vives F, Morales A, Mora F. Lesions of connections - of the medial prefrontal cortex in rats: Differential effects on self-stimulation and spontaneous mot. activity. Physiol Behav., 36: 47 - 52 (1986).

Wauquier A, Rolls ET (eds.). Brain-Stimulation Reward. North-Holland, Amsterdam, (1976).

Williams JT, Zieglgänsberger W. Neurons in the fron-

tal cortex of the rat carry multiple opiate receptors. Brain Res., 226: 304 - 308 (1981).

Wise RA. Catecholamine theories of reward: a critical review. Brain Res., 152: 215 - 247 (1978).

Wise CD, Berger BD, Stein L. Evidence of alfa-norenergic reward receptors and serotonergic - punishment receptors in the rat brain. Biol. - psychiat., 6: 3 - 21 (1973).

Wurtz RH, Olds J. Amygdaloid stimulation and operant reinforcement in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 56: 941 - 949 (1963).

APENDICE

1.- ABREVIATURAS.

- AVT: área ventrosegmental del mesencéfalo.
- CE: corteza entorrinal.
- CPM: corteza prefrontal medial.
- CPS: corteza prefrontal sulcal.
- FPM: fascículo prosencefálico medial.
- SS: autoestimulación.
- 6 OHDA: 6-hidroxidopamina.