

Alteración de la toma de agua después de la lesión de los cuerpos mamilares

M. P. Tejedor del Real, M. P. Santacana-Altimiras y R. Alvarez-Peláez

Instituto Cajal
Departamento de Biofísica
C.S.I.C. Madrid

(Recibido el 2 de diciembre de 1971)

M. P. TEJEDOR DEL REAL, M. P. SANTACANA-ALTIMIRAS and R. ALVAREZ-PELAEZ. *Alteration in Water Intake After the Lesions of Mammillary Bodies*. R. esp. Fisiol., 28, 95-102. 1972.

The study carried out shows that the exaggerated drinking of rats with lesions of the mammillary bodies is a primary hyperdipsia, with a subsequent secondary polyuria. This hyperdipsia is not secondary to prandial drinking, surgical stress or even a possible «diabetes insipidus».

Secondly experimental rats had a water motivation level superior to that of control animals.

The conclusion that these experimental results leads to the conclusion that mammillary bodis like other limbic structures may be involved in water intake mechanisms.

Diversos investigadores (2, 3, 6) han demostrado ampliamente que diversas estructuras límbicas están estrechamente ligadas con los mecanismos de la toma de agua, mecanismos que no parecen estar relacionados con la producción de la hormona antidiurética.

FONBERG y RODRÍGUEZ-DELGADO (4) al igual que MORGAN y KOSSMAN (8) consideran que la acción inhibitoria respecto a la toma de agua mediante estimulación de la amígdala es independiente del hipotálamo y abogan por un sistema constituido por amígdala-área septal-núcleo caudado, apoyándose en las conexiones anatómicas funcionales entre amígdala y el núcleo caudado, demostradas por GLOOR (5).

El descubrimiento de la importancia del

sistema límbico en el mecanismo de la sed ha sido muy importante para nosotros puesto que los cuerpos mamilares, con los cuales se trabaja, también son parte de este sistema límbico tanto anatómicamente como funcionalmente.

Anatómicamente los cuerpos mamilares están unidos al hipocampo y al septum por el fórnix y a los núcleos anteriores del tálamo por el tracto mamilotalámico y existen fibras que los conectan al túbulo cinéreo y al hipotálamo.

Funcionalmente se ha visto en investigaciones llevadas a cabo en este laboratorio que los cuerpos mamilares se comportan desde el punto de vista del condicionamiento como estructuras límbicas: su lesión produce una facilitación en la ad-

quisición de condicionamientos defensivos y una alteración en el nivel de motivación (9).

En el presente trabajo se estudia si, al igual que en otras estructuras rinencefálicas, los cuerpos mamilares tenían también un papel en los mecanismos de la sed, y si este papel estaba o no ligado al mecanismo hipofisario, puesto que los cuerpos mamilares están unidos anatómicamente por el *medial forebrain bundle* al hipotálamo, el cual regula la secreción hipofisaria.

Material y métodos

Animales de experimentación

Se utilizan una serie de 30 ratas macho de raza Wister cuyo peso medio al principio del experimento era de unos 300 g.

Todos los animales dispusieron de comida y de bebida *ad libitum* en la primera fase del experimento durante el cual se controló la toma de agua en condiciones normales, es decir, antes de proceder a ninguna manipulación operatoria. El volumen de agua consumida por los sujetos en estas condiciones durante 24 horas fue de 30,7 ml, siendo los valores extremos de 19,3 ml y 48,8 ml. Este estudio preliminar de la cantidad de bebida se llevó a cabo durante 4 días:

Una vez tomadas estas medidas se dividió el grupo de animales al azar, en un grupo testigo compuesto por 10 animales y un grupo experimental de 20. Ambos grupos fueron operados. El grupo experimental sufrió la coagulación electrolítica de los cuerpos mamilares. El grupo testigo fue sometido a una operación análoga pero sin lesionar la estructura que estudiamos.

Técnicas operatorias

Todas las operaciones se llevaron a cabo bajo anestesia con Nembutal admi-

nistrado por vía intraperitoneal a dosis de 50 mg/kg de peso.

La localización de las estructuras se llevó a cabo en el aparato estereotáxico de Horsley y Clark.

Las coordenadas estereotáxicas en que se produjo la lesión fueron, de acuerdo con el atlas estereotáxico de ALBE-FES-SARD (1), de:

$$A = 4,2; \quad L = 0,5; \quad H = 1,5$$

Histología

Una vez acabado el experimento se procedió a hacer cortes histológicos de los respectivos cerebros para controlar la localización exacta de la lesión.

En las figuras 1 y 2 se puede ver un ejemplo de los cortes obtenidos en nuestras ratas experimentales, donde se observa la lesión.

Hay que hacer constar que la mayor parte de las lesiones interesaban principalmente la parte anterior de los cuerpos mamilares (cuerpos premamilares) y en algunos casos se extendían ligeramente al hipotálamo posterior.

Resultados

De los datos obtenidos en cada uno de los experimentos realizados se obtiene evidencia clara de la existencia de una polidipsia como consecuencia de la lesión de los cuerpos mamilares.

Sobre la toma de agua

Después de 48 horas de realizadas las operaciones y durante 10 días consecutivos se procedió a controles diarios de la toma de agua disponiendo los animales de comida y de bebida *ad libitum*.

Los resultados postoperatorios obtenidos para la toma de agua fue de una media diaria de 29,9 ml para los sujetos tes-



Fig. 1. *Fotografía histológica de un corte frontal del cerebro de una de nuestras ratas experimentales, anterioridad 4,2.*

En esta sección cerebral se observa en la parte inferior la destrucción de los cuerpos mamilares producida por coagulación electrolítica. Las ratas con este tipo de lesión mostraron una marcada polidipsia cuya toma de agua media diaria fue de 107 ml, mientras que para los animales testigo, carentes de lesión, fue de 29.9 ml.

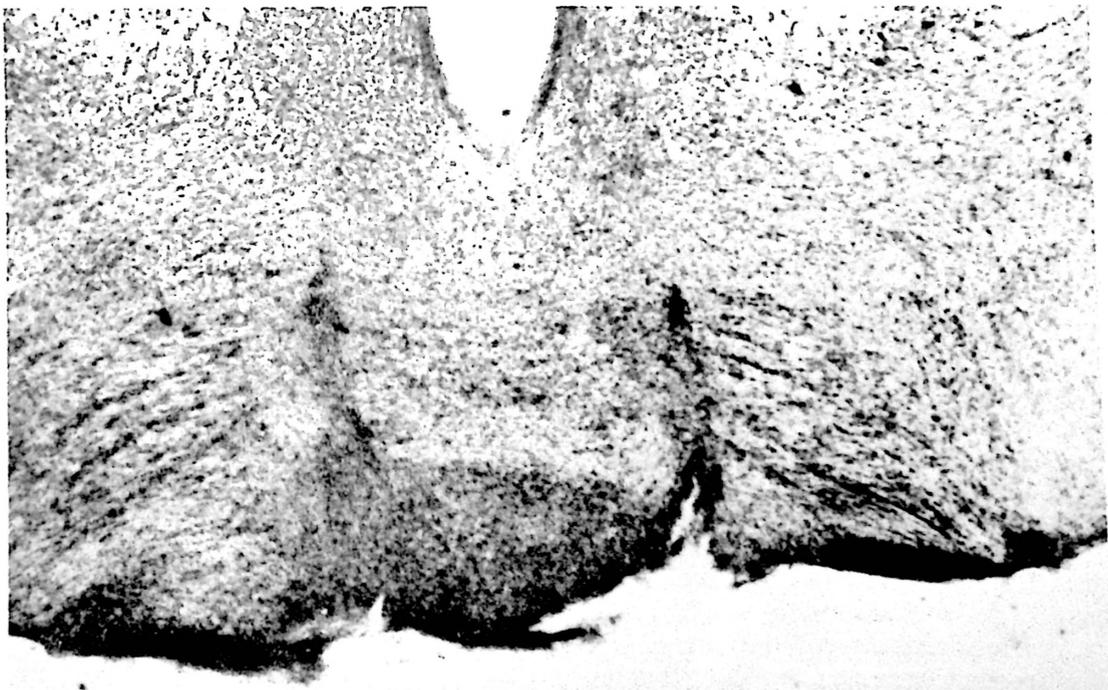


Fig. 2. *Fotografía a mayor aumento de una lesión semejante de los cuerpos mamilares en otra de nuestras ratas experimentales*

Se puede también observar un pequeño tracto de la bajada de los electrodos, lo cual no implica ninguna alteración en nuestros resultados puesto que los animales testigo también los tienen.

Tabla I. *Medias de las medidas diarias de la toma de alimento (a) y de la toma de agua (b) con comida y bebida ad libitum, y de la toma de agua bajo privación de alimento (c), ingeridas por el grupo mamilar (con lesiones en los cuerpos mamilares) y por el grupo testigo.*

Grupo	(a) g	(b) ml	(c) ml
Mamilar	29,8	107	52,6
Testigo	26,4	29,9	32,1

tigo, mientras que para los experimentales la media diaria fue de 107 ml.

Esta diferencia es tan importante y sistemática que hace innecesarios los cálculos estadísticos y demuestran de una manera clara que después de la lesión de los cuerpos mamilares hay una gran alteración en la toma de agua (tabla I).

Resultados obtenidos bajo privación de agua (privación parcial)

Es bien sabido que las ratas que se han vuelto polifágicas mediante lesiones hipotalámicas de los núcleos ventromediales se comportan frente a los test específicos de motivación como ratas «menos» motivadas que los animales testigo (7, 10).

Interesaba, pues, conocer si nuestros animales polidípsicos a semejanza de los animales polifágicos, presentaban, a pesar de su polidipsia, un nivel menor de motivación hacia el agua o si ocurría lo contrario, es decir, si la privación de agua aumentaba la motivación y su incremento en la toma de líquidos correspondía a un aumento real de la motivación.

Para ello se recurre a una prueba clásica de medida de motivación: la medida de velocidad de recorrido de un *run-way* para alcanzar una pequeña cantidad de agua; la velocidad de recorrido es un índice fiel del nivel de motivación.

Las velocidades de recorrido fueron significativamente menores para los animales experimentales que para los testigo. La

latencia media para el grupo experimental fue de 14,8 segundos. Para el grupo testigo fue de 49,0 segundos. La diferencia entre ambas medidas es estadísticamente significativa al umbral de $p < 0,001$.

La tabla II permite apreciar que el nivel de motivación de las ratas experimentales es mayor que el de las testigo desde el primer día del test. El nivel de los animales lesionados desde el primer día del test no es alcanzado por los animales testigo más que el último día de la prueba. Hay que hacer notar que prevenimos, por lo menos parcialmente, el factor aprendizaje mediante un preconditionamiento en el que el refuerzo siempre estuvo presente en la caja de llegada a la que ambos grupos de animales tuvieron libre acceso durante una primera fase del experimento y esto da lugar a que ambos grupos de animales conozcan de antemano la situación del refuerzo.

Estos resultados tan netos permiten concluir que la avidez por el agua de los animales experimentales corresponde a una motivación real. Superior para éstos que para los testigo, que se traduce en un aumento de la velocidad de recorrido de *run-way*.

Posible alteración en la toma de alimento

La diferencia en la toma de agua hallada entre experimentales y testigos podía quizás explicarse mediante la hipótesis de que la lesión de los cuerpos mamilares alterara la toma de alimento, ya directa-

Tabla II. *Velocidad media de recorrido de un run-way con motivación de sed.*

Tiempo, medido en segundos, que tarda el animal en recorrer un pasillo para alcanzar una pequeña cantidad de agua, después de haberse privado de ella.

Grupo	D í a			Media
	1.º	2.º	3.º	
Mamilar	23,4	11,8	9,4	14,9
Testigo	83,3	40,1	23,8	49,0

mente, ya mediante una extensión de la lesión a los núcleos hipotalámicos más próximos y que la alteración en la toma de alimento fuera la responsable de la alteración en la toma de agua. Por esto procedimos a un control de la toma de alimento seco.

Cada uno de nuestros animales dispuso de 25 g de piensos *Pan-Lab* para ratas. En 24 horas los animales experimentales habían consumido 20,1 g de trigo y 9,7 g de pienso comiendo en total 29,8 g de alimento seco. Las ratas testigo comieron 21,6 g de trigo y 4,8 g de pienso, comiendo en total 26,4 g de alimento.

La diferencia total entre testigos y experimentales es, pues, de 5,2 g, diferencia no significativa estadísticamente (tabla I).

Possible sed prandial

Cabía también la posibilidad de que la polidipsia observada se debiera a una sed prandial. Para verificar esta hipótesis se sigue el experimento de Blass (2) privando a las ratas de alimento durante 72 horas consecutivas y viendo cómo la privación de alimento influye sobre la toma de agua. Si el origen de la sed observada está asociado a la toma de alimento sólido la privación de alimento debería igualar la toma de agua entre testigos y experimentales. No fue esto lo que sucedió. Los animales lesionados, si bien redujeron considerablemente su toma de agua, continuaron bebiendo más que los testigos (t de Student = 2,59, $v = 19$, $p < 0,02$) (tabla I).

Estos resultados llevan a descartar la hipótesis de que la sed observada después de la lesión de los cuerpos mamilares tenga un origen prandial.

Al mismo tiempo que se comprueba este origen prandial se obtuvieron otros resultados sobre la polidipsia bajo la privación de alimento.

Como esta privación de alimento duró un tiempo bastante largo, se produjo en los animales una pérdida de peso que fue

controlada por nosotros ya que interesaba saber si los animales con lesiones en los cuerpos mamilares reaccionaban como los animales testigo frente a la falta de alimento o si se producía en ellos alguna alteración más considerable. Nosotros no hallamos diferencia entre ambos grupos en cuanto a pérdida de peso durante la privación de la comida. Los animales experimentales conservaron el 90,3 % de su peso *ad libitum*, los animales testigo el 88,3 %. Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Durante los días siguientes a la privación de comida se continuó controlando la toma de agua para ver cómo se restauraba la polidipsia, ya con una toma de alimento normal.

Al disponer de nuevo de alimento, las ratas polidípsicas incrementaron de nuevo notablemente su toma de agua con respecto a los animales testigo.

Possible poliuria primaria

En primer lugar interesaba medir hasta qué punto las ratas con un gran incremento en la toma de agua presentaban también una mayor eliminación de la misma. Para ello se utilizaron jaulas metabólicas, que permiten una exacta medida del agua eliminada por la orina, ya que están diseñadas de tal manera que permiten recoger independientemente la orina, libre de todo residuo sólido.

Se comprobó la cantidad de orina excretada cada 24 horas durante dos días consecutivos. Los sujetos podían disponer de comida y de bebida *ad libitum*.

En estas condiciones el volumen medio de orina excretado por los animales experimentales fue muy superior al de los testigos, del orden de 555,4 %, ya que para los primeros la media fue 71,1 ml y para los segundos 12,5 ml.

La tabla III muestra el detalle de los volúmenes observados en el grupo experimental y en el grupo testigo.

Los resultados demuestran que la poli-

Tabla III. Valores medios diarios de la orina excretada por nuestros animales experimentales y testigos en condiciones ad libitum (a) y durante 48 horas de privación de agua (b).

Grupo	Excreción de orina (ml)	
	(a)	(b)
Mamilar	71,1	8,85
Testigo	12,5	3,75

dipsia observada después de la lesión de los cuerpos mamilares se acompaña de una marcada poliuria.

Quedaba por determinar si esta poliuria era o no primaria a la polidipsia.

Es bien sabido que los animales con lesiones en los núcleos periventriculares y supraópticos presentan una poliuria primaria que lleva consigo una polidipsia secundaria. Este mismo fenómeno se observa tras lesiones del lóbulo posterior de la hipófisis y se conoce con el nombre de diabetes insípida. Los animales que padecen diabetes insípida carecen de hormona antidiurética (responsable de la reabsorción del agua en los túbulos renales), perdiendo por ello cantidades importantes de agua cuya única compensación es un aumento importante en la toma de agua.

La proximidad anatómica existente entre los cuerpos mamilares y la hipófisis nos hacía temer que la polidipsia encontrada fuera debida a una posible lesión de la glándula por extensión de la lesión a las estructuras circundantes y por esto nos interesaba saber de una manera especial si nuestros animales experimentales eran o no capaces de regular su excreción de orina en ausencia de agua y si eran capaces de sobrevivir en privación total de agua.

Para probar este punto se procedió de la siguiente manera: se llevó de nuevo a los animales estudiados en cuanto a su excreción de orina a las jaulas metabólicas. Los animales podían disponer de comida pero no de agua, de la cual fueron privados desde el momento en que fueron llevados a las jaulas. Se despreció la orina

excretada durante las diez primeras horas. Se recogió toda la orina excretada durante las 48 horas siguientes. Durante las cuales ninguno de los animales tuvo acceso al agua o a cualquier alimento húmedo, componiéndose su dieta de trigo y pienso para ratas.

En estas condiciones observamos una drástica disminución del volumen de orina excretada por los animales experimentales ya que pasan de excretar 71,1 ml por término medio durante 48 horas, a excretar 8,85 ml diarios. Esta espectacular reducción en el volumen de orina excretada nos hace pensar que la polidipsia observada es primaria a la poliuria. Las ratas regulan perfectamente la reabsorción de agua en los túbulos renales y al ser privadas de ella excretan significativamente menos cantidad de orina. La poliuria observada no es, pues, debida a una diabetes insípida producida por extensión de la lesión a la hipófisis.

También las ratas testigo, como es de esperar, reducen el volumen de orina excretada al ser privadas de agua, pero en menor proporción que las experimentales. Ellas pasan de orinar 12,5 ml por término medio en 48 horas a orinar 3,75 ml de media (tabla III).

Hemos de hacer notar que ninguno de los animales experimentales murió como consecuencia de la privación total de agua.

Discusión

Hemos visto que después de la lesión de los cuerpos mamilares se produce un importante aumento en la toma de agua y se han estudiado con el mayor interés todos los fenómenos relacionados con el comportamiento alimenticio, la bebida y el peso de los animales lesionados.

Desde las 48 horas siguientes a las coagulaciones, los animales experimentales presentan un gran aumento en la toma de agua. Este aumento se mantuvo inalterado durante todo el tiempo que duró el estudio (dos meses, aproximadamente).

El interés que representan las lesiones nos obligó a perfundir a los animales experimentales al cabo de este tiempo, pero no se observó más que una ligera regresión de la polidipsia al final de este período, que se puede considerar muy largo para la rata. Se puede, pues, pensar que se trata de una alteración sumamente estable, sobre todo teniéndose en cuenta que los efectos de muchas de las lesiones practicadas en el sistema nervioso se recuperan al cabo de cierto tiempo.

La polidipsia observada no puede atribuirse al choque operatorio ya que, ni los animales testigo, ni los sujetos lesionados en otras áreas del cerebro (hipocampo dorsal a nivel A = 6,8), presentan alteración alguna en la toma de agua.

Cabía la posibilidad de que la alteración en la toma de agua se debiera a un aumento o a alguna anomalía en el comportamiento alimenticio. Pero hubo que descartar esta hipótesis ya que el control de la toma de alimento seco (trigo y pienso) demostró que ambos grupos eran homogéneos en cuanto a su comportamiento alimenticio.

Se estudió también la posibilidad de que la polidipsia observada fuera debida a una sed prandial. El hecho de que los sujetos experimentales al ser privados de alimento mantuvieran día a día una toma de agua aproximadamente el doble de los testigos, nos demostró que el incremento en la toma de agua no estaba ligado a la sed prandial.

Al estudiar lesiones en otras áreas hipotalámicas, relacionadas con el comportamiento alimenticio, se halló que, paradójicamente las ratas polifágicas se mostraban menos motivadas que los animales no lesionados al estudiar su nivel de motivación. Interesaba, pues, conocer el nivel de motivación de nuestros animales polidípsicos. El test de *run-way* demostró que, contrariamente a lo que sucede con las ratas polifágicas hipotalámicas, nuestros animales mostraban un aumento real de la motivación por el agua. Este aumento

de la motivación se tradujo por un descenso muy significativo de las latencias medias de recorrido de *run-way*.

Este mayor nivel de motivación lleva aparejada una mayor pérdida de peso en los animales experimentales con respecto a los testigos cuando ambos ven reducida su toma de agua, lo que hace patente que la necesidad de agua es mayor para los sujetos experimentales que para los testigo.

Las medidas de la cantidad de orina excretada por ambos grupos de animales permitieron comprobar que, como era de esperar, los sujetos polidípsicos eran también poliúricos.

Cabía la posibilidad de que los resultados obtenidos después de la lesión de los cuerpos mamilares sobre la toma de agua, se debiera en realidad a una lesión hipofisaria producida por extensión de la coagulación, la cual fuera responsable de la aparición de una diabetes insípida en los sujetos experimentales. Dicha posibilidad fue descartada al comprobar que la privación total de agua no lleva a la muerte de los animales experimentales. Las medidas del volumen de orina en estas condiciones se redujo drásticamente. Los animales pueden, pues, controlar el volumen de orina perdido por excreción, lo que no sería posible si hubiera una falta de ADH. La polidipsia, pues, debe ser considerada una polidipsia primaria y la poliuria debe ser secundaria a esta polidipsia, contrariamente a lo que sucede en los casos de diabetes insípida.

Por otro lado, se tuvo la precaución, una vez perfundidos los animales experimentales y al separar el cerebro de la caja craneana, de comprobar que no se había producido ningún daño al infundíbulo. En ningún caso encontramos la menor alteración del mismo.

Debemos también señalar que los estudios secundarios sobre la actividad espontánea y la emotividad fueron de todo punto coherentes con los hallados en este laboratorio después de la lesión de los

cuerpos mamilares (9). Tanto el aumento de la actividad espontánea como la disminución de la emotividad fueron confirmados en este experimento.

Se puede, pues, concluir que los cuerpos mamilares, como otras estructuras límbicas, están implicadas no sólo en la regulación de los procesos emocionales, sino también en los de la toma de agua.

Resumen

Se estudia la alteración de la toma de agua provocada por la lesión de los cuerpos mamilares. Se utilizó una serie de 30 ratas, de las cuales, 20 sufrieron la electrocoagulación bilateral de los cuerpos mamilares (grupo experimental) y las 10 restantes fueron sometidas a la misma operación, incluyendo el descenso del electrodo hasta la estructura deseada, pero emitiendo la coagulación (grupo testigo).

Después de la operación y durante un período de dos meses se procedió a controlar diariamente la toma de agua de cada uno de nuestros animales. Se observó una marcada polidipsia en los animales experimentales, siendo la media diaria para éstos de 107 ml, mientras que para los animales testigo fue de 29,9 ml.

Esta polidipsia no parece tener relación ni con la sed prandial, ni con la toma de alimento, ni con la diabetes insípida hipofisaria, ni con el trauma operatorio.

También hemos podido observar que las ra-

tas mamilares mantenían un nivel de motivación real por el agua superior a las testigo.

Podemos, pues, afirmar que los cuerpos mamilares, al igual que otras estructuras límbicas (demostrado por otros autores) no sólo están implicadas en la regulación de los procesos emocionales, sino también en los de la toma de agua.

Bibliografía

1. ALBE-FESSARD, D., STUTINSKY, F. y LI-BOUBAN, S.: «Atlas Stéréotaxique du diencéphale du rat blanc». Ed. du CNRS. París, 1969.
2. BLASS, E. M. y HANSON, D. G.: *Jour. Comp. Physiol. Psychol.*, **70**, 87, 1970.
3. COVIAN, M. R.: *Acta Physiol. Lat. Amer.*, **16**, 119, 1966.
4. FONBERG, E. y RODRÍGUEZ DELGADO, J. M.: *J. Neurophysiol.*, **24**, 651, 1961.
5. GLOOR, P.: «Amígdala». Handbook of Physiology, Sect. 1, *Neurophysiol.*, **2**, J. FIELD *et al.*, Amer. Physiol. Soc., Washington D.C., 1960, p. 1393.
6. MARÍN, B.: *An. Ins. Farm. Esp.*, **15-16**, 127, 1970.
7. MILLER, N. E., BAYLEY, C. J. y STEVENSON, J. A. F.: *Science*, **112**, 256, 1950.
8. MORGAN, P. J. y KOSSMAN, A. J. A.: *Amer. J. Physiol.*, **197**, 158, 1957.
9. SANTACANA, M. P. y ALVAREZ PELÁEZ, R.: *C. R. Acad. Sci.*, **268**, 721, 1969.
10. TEITELBAUM, P.: *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **50**, 486, 1957.