



**ESTUDIO DE LA CITOARQUITECTURA DE LAS NEURONAS
DEL *Nucleus Accumbens* DEL CEREBRO DE RATAS,
TRAS LESION NEONATAL CON 6-HIDROXIDOPAMINA.**

TESIS

Para obtener el grado de

**MAESTRO EN
FARMACOLOGÍA BÁSICA.**

Presenta:

Biol. Silvia del Carmen García Martínez

D. en C. Ignacio González Burgos.
Director de tesis

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
"Dr. Ignacio Chávez"

OCTUBRE 2008

Dedico esta tesis con todo mi amor a:
Fernando,
A mis hijos César y Pablo
Y a mis padres.

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco al IMSS por la beca otorgada para la realización de esta tesis.

Al Dr. Ignacio González-Burgos por haberme guiado en el camino de la ciencia y darme la oportunidad de desarrollar este proyecto tan interesante e importante para mí. Muchas gracias doctor.

A Dulce Anahí por haber sido maestra y amiga.

A mis compañeras de estudios: Dafne, Adriana, Lety Pérez, Lety García, Mónica y Haidé por los momentos tan agradables que pasamos.

A mis maestros porque los conocimientos que me brindaron me ayudaron a alcanzar mi objetivo: la actualización profesional.

Le agradezco a mi esposo y mis hijos el haberme fortalecido y animado en momentos difíciles, gracias porque han sido mi aliciente para llegar hasta aquí.

A mi mamá porque siempre estuvo cuando la necesité. A mis hermanos y sus familias por su apoyo moral. A mi papá le doy gracias por la confianza que siempre me tuvo.

Y principalmente agradezco a Dios por el tiempo que me ha permitido disfrutar a mi familia, mis amigos y este periodo de estudio tan gratificante.

*Bienaventurado el hombre que halla la sabiduría,
Y que obtiene la inteligencia;
Porque su ganancia es mejor que la ganancia de la plata,
Y sus frutos más que el oro fino.
Más preciosa es que las piedras preciosas;
Y todo lo que puedes desear, no se puede comparar a ella.
Proverbios 3: 13-15*

Contenido:

<i>AGRADECIMIENTOS:</i>	3
<i>INTRODUCCION :</i>	5
<i>ANTECEDENTES</i>	27
<i>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	31
<i>HIPOTESIS</i>	32
<i>OBJETIVO GENERAL</i>	33
<i>OBJETIVOS ESPECIFICOS</i>	33
<i>MATERIAL Y METODOS</i>	34
<i>REFERENCIAS:</i>	52

El comportamiento es un espejo en el que cada uno muestra su imagen.
Johann Wolfgang

INTRODUCCION :

Uno de los trastornos neurológicos que actualmente ha cobrado gran importancia debido a su incidencia es el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH). Se considera que el TDAH es un desorden de prevalencia mundial que afecta aproximadamente al 5-10% de la población infantil (Faraone et al., 2003; Paule et al., 2000) y en más de la mitad de los casos perdura hasta la edad adulta (Mediavilla-García, 2003). El TDAH es una manifestación de diversos síntomas de inatención y de hiperactividad-impulsividad, que interfieren con el adecuado desempeño social, escolar o familiar (American Psychiatric Association, 1994). El TDAH se ha investigado con gran interés desde hace más de 100 años (Barkley, 1998) y actualmente está claro que se trata de un trastorno neurobiológico real en el que se entremezclan factores biológicos y ambientales, que moldean así las manifestaciones finales y la presentación clínica del trastorno en cada individuo (Castellanos y Acosta, 2002).

Desde su identificación sintomatológica, el TDAH ha recibido diferentes nombres. A principios del siglo XX Still describió en la revista Lancet, el comportamiento de algunos niños cuya sintomatología correspondía al TDAH, refiriéndolo como un “defecto del control moral”, nombre con el que se conoció al trastorno en ese entonces (Barkley, 1998; Mediavilla-García, 2003). El “defecto del control moral” se relacionaba con un mayor riesgo a realizar actos criminales o comportarse de forma indebida (Barkley, 1998). Posteriormente y debido a la epidemia de encefalitis de los años 1917-1918, la cual originó secuelas de

comportamiento hiperactivo, algunos autores relacionaron el daño cerebral con la hiperactividad y surgió el término “Daño Cerebral Mínimo” que perduró hasta los años 60’s (Barkley, 1998; Mediavilla-García, 2003). Fue en 1937 cuando Bradley, aplicó un tratamiento con benzedrina, que mejoró el rendimiento escolar en niños con problemas de comportamiento y disminuyó su actividad. A partir de entonces las anfetaminas y sus derivados se han administrado como fármacos para atenuar los síntomas del TDAH.

El término de “Daño Cerebral Mínimo” se cambió por el de “Disfunción Cerebral Mínima” debido a que la relación con el daño cerebral y el TDAH no pudo comprobarse. Poco después, el DSM-II lo designa como “Síndrome del Niño Hiperactivo” (Barkley, 1998; Mediavilla-García, 2003). El término “Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad” fue introducido en la década de los 80’s, y aceptado como tal por la American Psychiatric Association (APA). Este término, fue incluido en el DSM-III y en esta ocasión, contó con una definición más amplia que daba importancia no solo a la hiperactividad sino también a la inatención y a la impulsividad (Barkley, 1998). El criterio diagnóstico vigente es el DSM-IV, el cual comprende una descripción más completa del TDAH, y ha servido para unificar criterios y descartar otros desordenes conductuales (APA, 1994).

Actualmente y de acuerdo al DSM-IV, para diagnosticar el TDAH se requiere que los síntomas de falta de atención, hiperactividad e impulsividad hayan surgido en la niñez, que ocurran frecuentemente, que no correspondan al nivel de desarrollo de la persona, que hayan persistido a través del tiempo (mas de 6 meses) y que obstaculicen significativamente la interacción de la persona en

el hogar, en la escuela, en sus relaciones personales y/o en el trabajo, de forma tal que no le permita adaptarse a su entorno (Barkley, 1998).

Además de la sintomatología diagnóstica mencionada el TDAH presenta diversos síntomas asociados como son ansiedad, depresión y dificultad para el aprendizaje, que varían de un individuo a otro (APA, 1994), aunados una frecuente comorbidad: personalidad desafiante, desordenes de conducta, desordenes emocionales (polar y bipolar), desordenes de ansiedad, y desordenes de aprendizaje (Biederman, 2005). En los adultos se presentan desordenes de ansiedad en aproximadamente el 50% de los casos, desordenes emocionales o de humor, desordenes antisociales, dependencia a las drogas y al alcohol (Biederman, 2005).

El TDAH se ha vinculado a un desorden fronto-basal que involucra una alteración de diversos sistemas de neurotransmisores particularmente a la dopamina (DA), lo cual ha sido confirmado mediante diversas técnicas de diagnóstico por imagen (Faraone y Biederman, 1998). Algunas propuestas atribuyen a daños intrauterinos o estrés fetal el origen de un cierto porcentaje de casos de TDAH (Barkley, 1998; Weinstock, 2001). Estas conclusiones han sido obtenidas mediante estudios retrospectivos con humanos (Weinstock, 2001) o en trabajos realizados con modelos experimentales (Clements, 1992). Mediante estas técnicas se han podido observar diferencias en las áreas de la corteza prefrontal, los ganglios basales en especial en el cuerpo estriado y en menor proporción en el cuerpo calloso y la corteza del cíngulo. Esta última región se relaciona más con la capacidad de atención que con la hiperactividad. Otra estructura anatómica que se

ha visto involucrada es el vermis del cerebelo, el cual se ha observado con un volumen reducido en algunas personas que padecen este trastorno (Biederman y Spencer, 1999).

Otra hipótesis acerca de la etiología de este padecimiento y que en los últimos años ha cobrado más fuerza, es la del origen genético (Waldman and Gizeh, 2006). En general, los genes candidatos propuestos están relacionados con los sistemas catecolaminérgicos y se han encontrado relaciones significativas con genes que codifican para la síntesis del transportador de dopamina (DAT) (Bayés et al., 2005; Madras et al., 2002; Swanson et al., 2000; Waldman and Gizeh, 2006), así como con la síntesis de los receptores a dopamina D1, D2, D3, D4, y D5 (Bayés et al., 2005; Swanson et al., 2000; Waldman and Gizeh, 2006), especialmente del receptor D4 (Zhang et al., 2001; 2002).

Sea genético o epigenético el origen del TDAH, el resultado es un desequilibrio en la neurotransmisión y la hipótesis de que la DA es el neurotransmisor involucrado cobra fuerza en virtud de que los fármacos utilizados para aliviar los síntomas del TDAH son las anfetaminas y el metilfenidato, cuyo efecto es el aumento de la concentración de DA extracelular (Biederman, 2005).

Aunque las neuronas dopaminérgicas en el cerebro son relativamente pocas, entre 300 000 y 400 000, juegan un importante papel en la regulación del movimiento, la conducta y la liberación de hormonas (Girault and Greengard, 2004). En el cerebro de la rata estas neuronas se concentran principalmente en tres núcleos: Sustancia Nigra parts compacta (SNc), Área Tegmental Ventral (ATV), y núcleo arcuato (Nestler et al., 2001). Las células de la SNc residen en el

cerebro medio ventral y proyectan hacia el caudado y el putamen formando el llamado Sistema nigroestriatal (Nestler et al., 2001). Las células del ATV proyectan hacia estructuras límbicas que incluyen al núcleo accumbens (NA), a la corteza prefrontal (CPF) y a la corteza del cíngulo; a este complejo de estructuras y conexiones se le conoce como Sistema mesocorticolímbico y se vincula con la función cognoscitiva y emotiva (Nestler et al., 2001). Las células dopaminérgicas del núcleo arcuato hipotalámico liberan DA sobre la hipófisis constituyendo el sistema tuberoinfundibular (Nestler et al., 2001). Los sistemas implicados en la modulación del comportamiento son principalmente el nigroestriatal y el mesocorticolímbico (Nestler et al., 2001). (Fig 1).

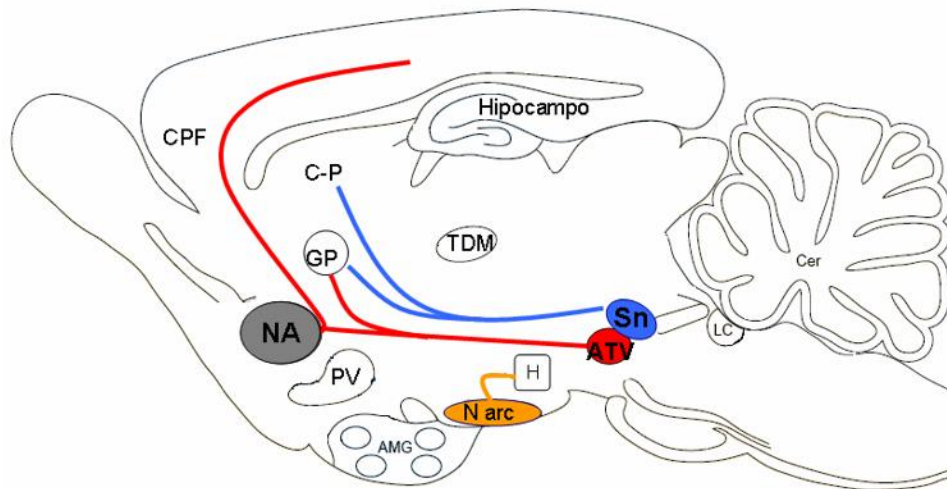


FIGURA 1: Sistemas dopaminérgicos. Los somas de las neuronas dopaminérgicas están concentrados principalmente en tres áreas: Área Tegmental Ventral (ATV), Sustancia nigra (Sn) y Núcleo arcuato (N arc.), desde donde proyectan sus terminales hacia diferentes áreas cerebrales. AMG: amígdala; C-P:

Caudado putamen, CPF: Corteza prefrontal, GP: Globo pálido; H: Hipotálamo; PV: Pálido ventral; TDM: Tálamo dorsomedial; LC: locus coeruleus; Cer: Cerebelo; H: Hipotálamo; NA: Núcleo Accumbens.

La síntesis de la DA inicia con la disponibilidad del aminoácido precursor tirosina, el cual es obtenido a través de la dieta (Nestler et al., 2001; Vallone et al., 2000). La tirosina da lugar a tres neurotransmisores que tienen en común en su estructura el grupo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) por lo que se denominan catecolaminas; estas son: DA, epinefrina y norepinefrina (Bahena-Trujillo et al., 2000; Nestler, et al., 2001). Para la síntesis de la DA, el primer paso es la hidroxilación del grupo catecol para dar lugar a la L-3, 4 dihidroxifenilalanina (L- DOPA), mediante la enzima tirosina-hidroxilasa que es producida por todas las neuronas catecolaminérgicas y es la enzima limitante en la síntesis de todas las catecolaminas (Nagatsu et al., 1964; Nestler et al., 2001; Vallone et al., 2000). El segundo paso, para transformarse en DA, es la descarboxilación de la L-DOPA mediante la enzima L-DOPA descarboxilasa (Nagatsu et al., 1964; Nestler et al., 2001) (Fig. 2).

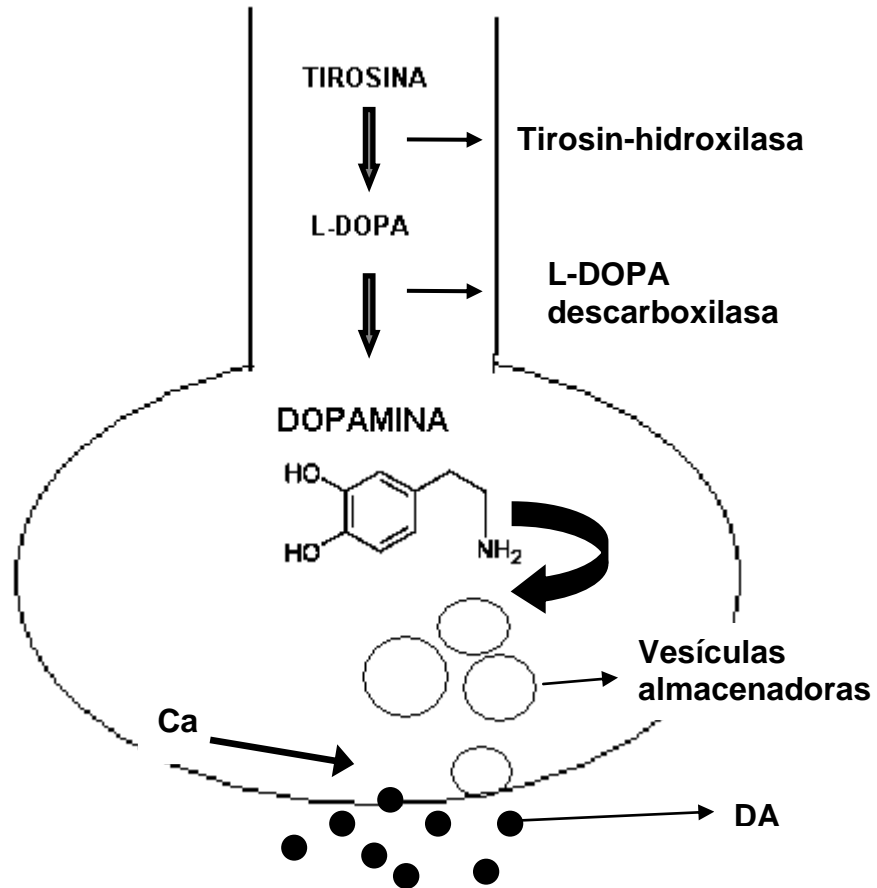


FIGURA 2: Síntesis de DA. El aminoácido tirosina obtenido de la dieta es hidroxilado mediante la enzima tirosin-hidroxilasa. Este metabolito es descarboxilado mediante el efecto de la enzima L-DOPA descarboxilasa originando DA que se acumula en vesículas almacenadoras. La liberación de DA ocurre ante el aumento en la concentración de Ca intracelular.

La elevada concentración de DA en el citosol inhibe la síntesis de la tirosina-hidroxilasa por parte de la célula, en tanto que la concentración elevada de calcio, que acompaña la liberación del neurotransmisor, aumenta la síntesis de la misma (Nestler et al., 2001). Una vez que la DA ha sido liberada en el espacio intersináptico, es captada por receptores pre y postsinápticos así como por los DAT; el resto es catabolizado. La degradación de la DA puede seguir dos vías. En una, la DA puede sufrir desaminación oxidativa y convertirse en ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) principalmente mediante la enzima monoaminooxidasa A (MAO-A) localizada en la membrana externa mitocondrial de las neuronas dopaminérgicas, siendo la vía degradativa de las moléculas de DA recaptadas (Cooper et al.2003; Webster, 2001). La otra vía es la conversión de la DA liberada en 3-metoxitiramina por la O-metil transferasa (COMT). Ambos productos son convertidos en ácido homovanílico (HVA) mediante la acción secuencial de las enzimas COMT y MAO-A (Cooper et al., 2003) (Fig. 3).

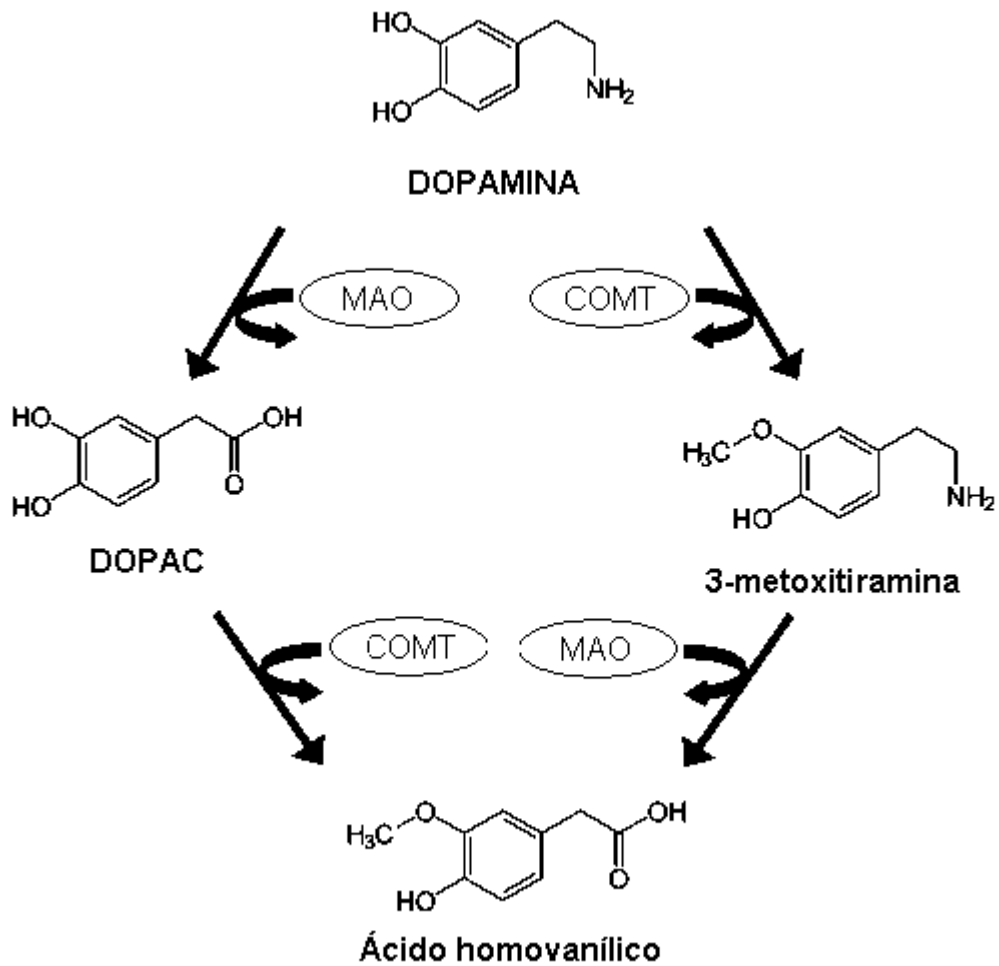


FIGURA 3: Ruta catabólica de la DA. La acción secuencial de las enzimas Monoamin-oxidasa (MAO) y O-metil transferasa (COMT) transforma la dopamina liberada en ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) o ácido homovanílico (HVA).

En el cerebro de la rata el principal metabolito de la DA es el DOPAC, mientras que en el cerebro de los primates es el HVA. Así, la formación de DOPAC puede utilizarse como indicador de la actividad dopaminérgica en la rata, mientras que la determinación de HVA en tejidos cerebrales y en el líquido cefalorraquídeo se utiliza como indicador de actividad de las neuronas dopaminérgicas en primates (Cooper et al., 2003).

En cuanto a receptores a DA, se han caracterizado 5 tipos: D1-D5, todos acoplados a proteínas G (Bahena-Trujillo et al., 2000; Missale et al., 1998; Nestler et al., 2001; Vallone et al., 2000). Los receptores D1 y D5 tienen una gran homología en sus dominios transmembrana, lo mismo que D2, D3 y D4 entre ellos (Missale et al., 1998; Vallone et al., 2000). A los receptores D1 y D5 se les denomina “tipo D1”, a los D2, D3, y D4 se les llama “tipo D2” y cada tipo de receptor tiene efectos parecidos (Girault and Greengard, 2004; Missale et al., 1998). Los receptores de la familia D1, están acoplados a proteínas G, las cuales estimulan la formación de AMPc (Bahena-Trujillo et al., 2000; Missale et al., 1998). Los subtipos pertenecientes a la familia D2 se acoplan a otras proteínas G (Gi y Go), las cuales inhiben la formación de AMPc, activan canales de K⁺ y reducen la entrada de iones de Ca²⁺ a través de canales dependientes del voltaje (Bahena-Trujillo et al., 2000; Missale et al., 1998). Las proteínas Gi activan la fosfolipasa C y estimulan la formación de IP3 y DAG (Cooper et al., 2003, Webster, 2001).

Los receptores a dopamina pueden ser pre- y postsinápticos. Los presinápticos se denominan autoreceptores y corresponden a los tipo D2 únicamente, mientras que los receptores postsinápticos, pueden ser cualquiera de los 5 receptores existentes (Cooper et al., 2003, Webster, 2001).

Se ha demostrado que los desordenes en la neurotransmisión de DA en los ganglios basales (Nicola, 2007) y en el NA (Parkinson et al., 1999) se manifiestan con alteraciones de la actividad locomotora (David et al., 2005; Madras et al., 2002; Mogenson et al., 1980; Zhang et al., 2001). Se ha comprobado que las lesiones experimentales del NA ocasionan cambios en el comportamiento motor, originando entre ellos hiperactividad y disminuyen la posibilidad de que el animal desarrolle la conducta motora apropiada o la correcta secuencia de movimientos dirigidos a un fin (Fernández-Espejo, 2000).

Anatómicamente, el NA forma parte de los ganglios basales, los cuales son una colección de núcleos bilaterales subcorticales cuyos mayores componentes son el cuerpo estriado y el globo pálido (Nestler et al., 2001). El cuerpo estriado se subdivide en dorsal (caudado y putamen) y ventral (NA) (Dongen et al., 2005; Herrero et al., 2002; Nestler et al., 2001) (Fig. 4).

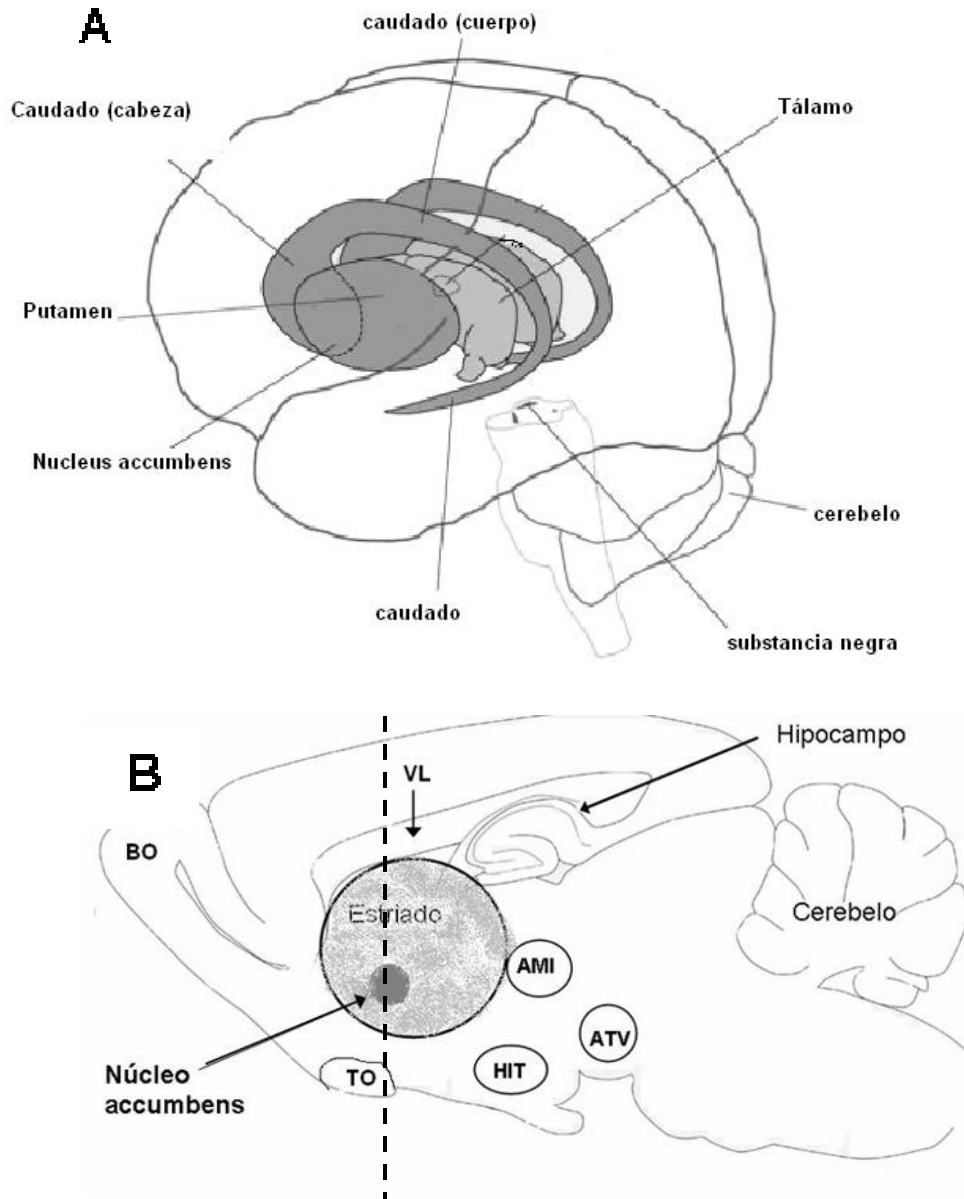


FIGURA 4: El NA forma parte de los ganglios basales y se localiza en el área ventral del estriado. El panel A muestra la ubicación del NA en el cerebro humano (Modificado de: Herrero et al., 2002). El panel B muestra la ubicación del Núcleo Accumbens en el cerebro de rata (Modificado de: Masuo et al., 2004). AMI: amígdala; ATV: área tegmental ventral; BO: Bulbo olfatorio; HT: hipotálamo; TO: tubérculo olfatorio; VL: ventrículo lateral.

El NA, al igual que el resto del estriado (Taverna et al., 2004), presenta dos tipos de neuronas: las que poseen dendritas espinosas y las que tienen dendritas lisas (Carpenter, 1984). Las neuronas espinosas denominadas “neuronas medianas espinosas” (NME) representan el 90-95% de la población neuronal del NA y son neuronas de proyección gabaérgicas, ya que su principal neurotransmisor es el ácido γ -aminobutírico (GABA) (Carpenter, 1984; Ferré et al., 1997). El 5-10% restante de neuronas, de dendritas lisas, son interneuronas gabaérgicas o colinérgicas (Taverna et al., 2004).

Las NME tienen un soma redondo u ovalado con un gran núcleo y posee de 7 a 8 dendritas primarias así como largos axones (Carpenter, 1984). Estas neuronas se clasifican en dos subtipos dependiendo de su expresión peptídica: unas expresan sustancia P y dinorfinas (Tipo I) y otras encefalinas (Tipo II) (Ferré et al., 1997). Las primeras son las más abundantes y presentan segmentos dendríticos proximales no espinosos. Tales dendritas se prolongan hasta 200 μ m y aproximadamente a los 20 μ m desde su inicio se observan abundantes espinas dendríticas (Carpenter, 1984). Las NME Tipo I proyectan de manera directa hacia el tálamo, vía los núcleos pedunculares y la sustancia nigra (Carpenter, 1984; Missale et al., 1998), en cuanto a los receptores a dopamina estos son fundamentalmente del Subtipo D1 (Franco, et al., 2007). Las tipo II, varían en forma y tamaño aunque generalmente son grandes. Sus dendritas espinosas se extienden hasta 600 μ m aproximadamente, poseen un núcleo central con

numerosas invaginaciones, un citoplasma abundante y forma pequeños cuerpos de Nissl (Carpenter, 1984).

El NA está subdividido en dos zonas que son: la “corteza” y el “centro” (*shell* y *core*, respectivamente; términos utilizados en inglés, en la literatura científica), esta última localizada alrededor de la comisura anterior (Dongen et al., 2005; Fernández-Espejo, 2000). Las regiones del NA difieren entre sí tanto en conexiones como neuroquímicamente (Fernández-Espejo, 2000) y se comunican mediante interneuronas gabaérgicas y colinérgicas (Dongen et al., 2005) (Fig. 5).

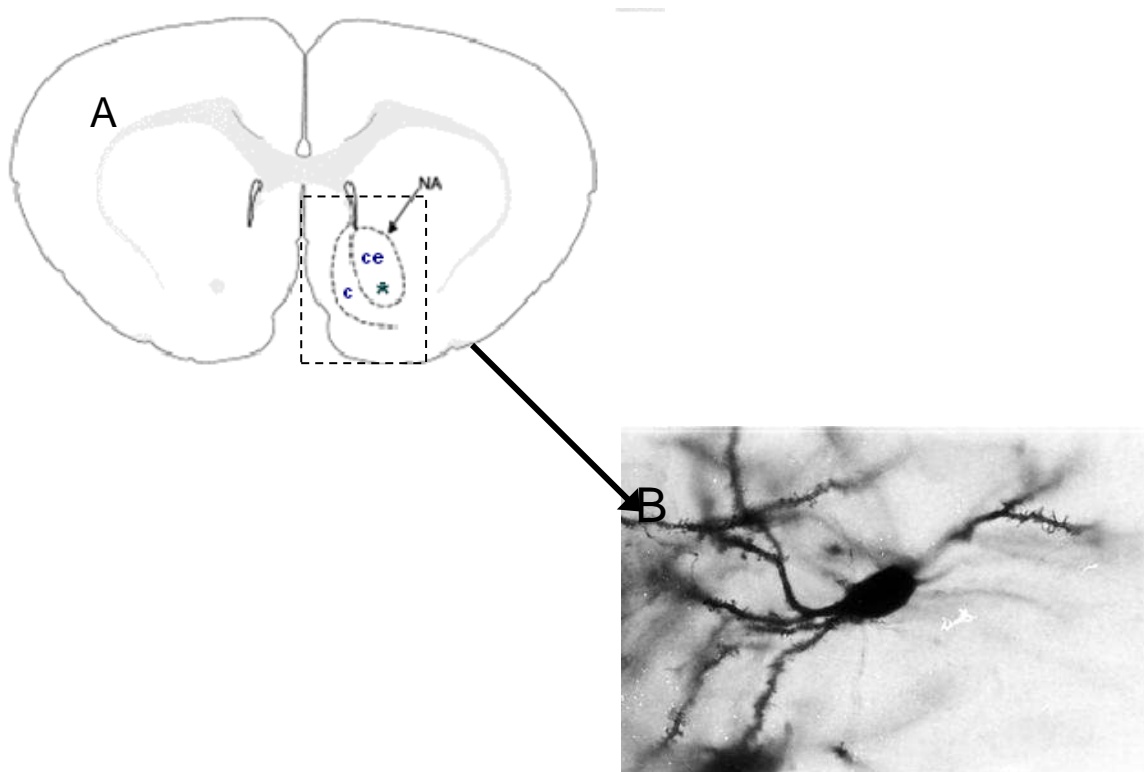


FIGURA 5: El panel A representa un corte coronal de cerebro de rata a 1.6mm anterior a la línea de bregma. Alrededor de la comisura anterior (marcada con asterisco) se encuentra el área del “centro” del NA y ventrolateral al mismo la “corteza”. En el Panel B se observa una Neurona mediana espinosa del NA.

El “centro” recibe aferencias dopaminérgicas de la Sustancia Nigra parts compacta, serotoninérgicas del rafé dorsal y glutamatérgicas tanto de la corteza prelimbica y de la corteza motora como del hipocampo dorsal (Berendse et al., 1992; Groenewegen et al., 1987; Heimer et al., 1991; Nauta et al., 1978). Además, presenta conexiones de salida gabaérgicas hacia el PV, formando parte del circuito córtico-estriado-pálido-talámico (Fernández-Espejo, 2000) (Fig. 6A).

La “corteza” recibe aferencias dopaminérgicas del ATV, serotoninérgicas del rafé medio, glutamatérgicas del subículo ventral del hipocampo, de la amígdala centromedial y de la CPF infralimbica y prelimbica dorsal (Alheid and Heimer, 1988; Berendse et al., 1992; Groenewegen et al., 1987; Heimer et al., 1991; Churchil and Kalivas, 1994). La “corteza” Envía eferencias al tegmento mesencefálico y al globo pálido ventral (PV) medial; este ultimo inerva al núcleo dorsomedial del tálamo, este a la corteza prefrontal dorsomedial, la cual proyecta fibras glutamatérgicas al “centro” del NA (Alheid and Heimer, 1988; Berendse et al., 1992; Groenewegen et al., 1987; Heimer et al., 1991; Churchil and Kalivas, 1994) (Fig. 6B).

Las características de conectividad del NA de recibir aferencias de núcleos límbicos y emitir proyecciones hacia núcleos motores, le confieren al NA el importante papel de mediador límbicas-motor como lo expresaran Mogenson y colaboradores en 1980.

A

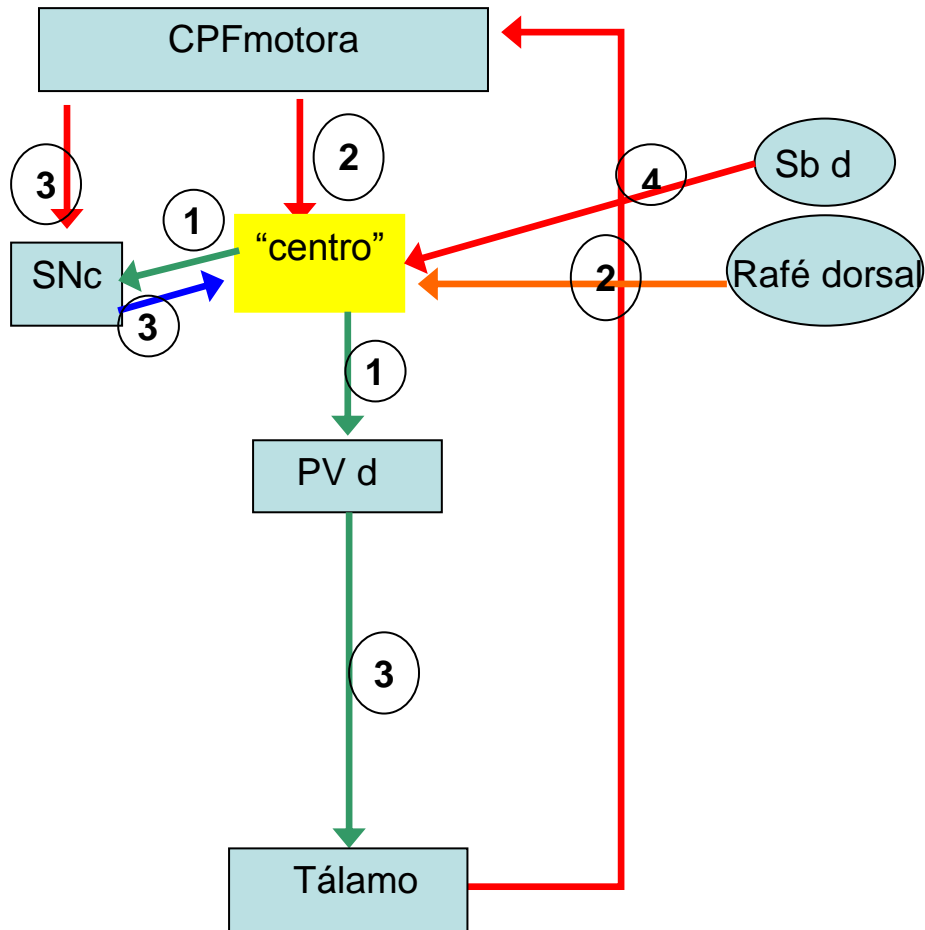


FIGURA 6A: Conectividad del NA. VIA DIRECTA. La región "centro" . Recibe aferencias dopaminérgicas de la Sustancia Nigra pars compacta (SNc); serotoninérgicas del rafé dorsal; glutamatérgicas de la Corteza motora, del subículo dorsal (Sb d); envía fibras gabaérgicas hacia el Pálido Ventral dorsal (PVd) que a su vez inerva al Tálamo. 1) Zahm and Heimer (1990), 2) Heimer et al., (1991); 3) Nauta et al., (1978); 4) Berendse et al., (1992).

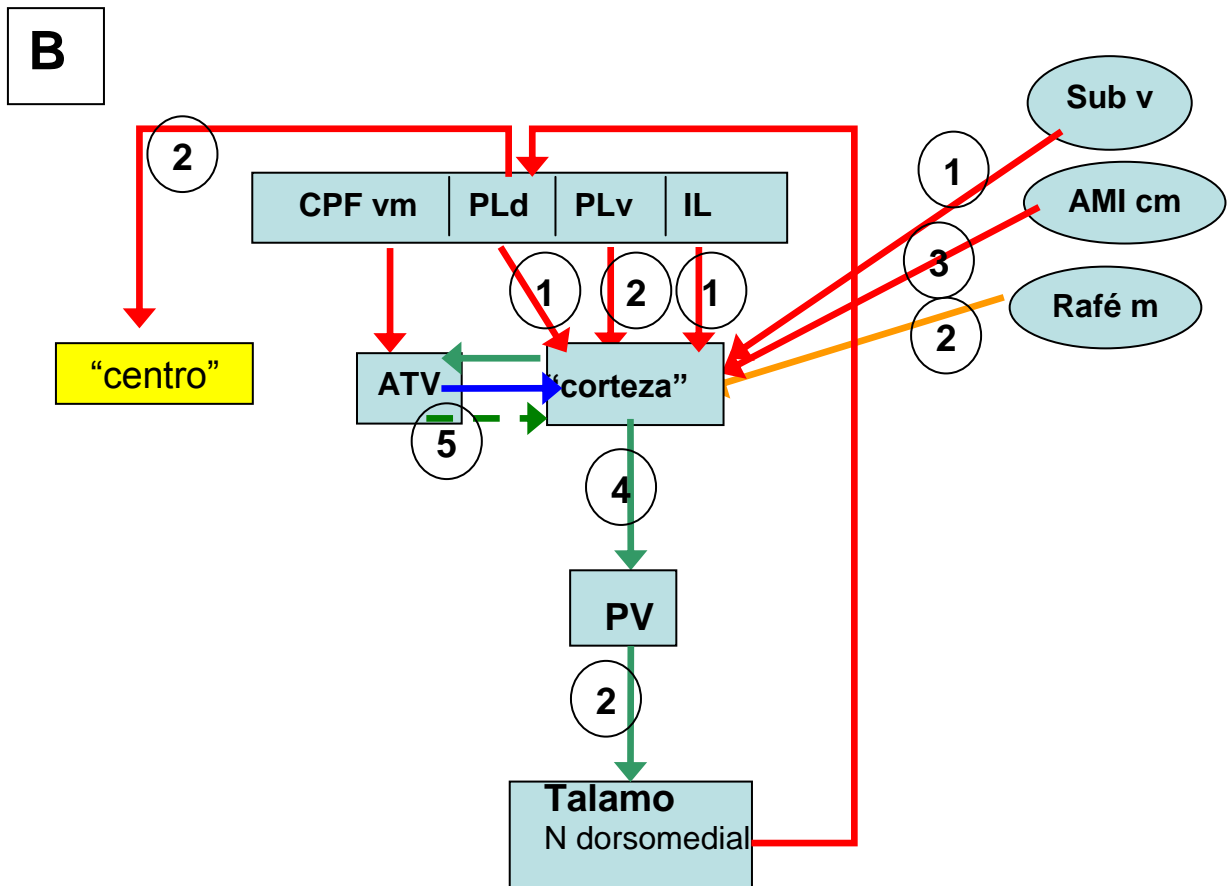


FIGURA 6B: Conectividad del NA VIA INDIRECTA. La "corteza" recibe aferencias dopaminérgicas del área tegmental ventral (ATV); serotoninérgicas del rafé medio (rafé m); glutamatérgicas de la CPF infralímbica (IL), prelímbica dorsal y ventral (PL, del subículo ventral del hipocampo (Sb v) y de la amígdala centro-medial (AMI cm); envía proyecciones gabaérgicas hacia el pálido ventral (PV) y el ATV. El PV a su vez envía fibras gabaérgicas hacia el núcleo dorsomedial del Tálamo que conecta hacia la corteza prelímbica dorsal y esta envía fibras glutamatérgicas casi exclusivamente hacia el "centro" del NA.. 1) Berendse et al., (1992); 2) Heimer et al., (1991); 3) Alheid and Heimer, (1988); 4) Churchill and Kalivas, (1994); 5) Bockstaele and Pickel (1995).

Los estudios electrofisiológicos muestran que para que el NA se active y envíe el estímulo adecuado que origine una respuesta, debe recibir información simultánea de la corteza prefrontal, la amígdala y el hipocampo (Fernández-Espejo, 2000). La corteza prefrontal fija la atención sobre determinada situación y la valora, mientras que el hipocampo la refiere en el contexto espacial; si a esto se le añade una carga emocional mediada por la innervación amigdalina, todo a un tiempo, se activa el NA y mediante la acción de la DA se consolida el ensamblaje neuronal (Fernández-Espejo, 2000). Si la situación se repite, se refuerza la respuesta motora y se perfecciona el conocimiento lo que se supone facilita la liberación de DA (Fernández-Espejo, 2000). La DA actúa sobre los receptores D1 que se encuentran en gran cantidad en la “corteza” y actúan en conjunto con receptores glutamatérgicos NMDA (Bardgett and Henry, 1999; Fernández-Espejo, 2000), los cuales se activan cuando existe una despolarización sostenida (Fernández-Espejo, 2000), conservándose durante más tiempo la excitabilidad de la neurona (Fernández-Espejo, 2000; Missale et al., 1998; Vallone et al., 2000).

El NA es un área de interacción funcional entre varios neurotransmisores. Las NME del NA tienen la característica de recibir aferencias de diferente tipo de neurotransmisor en la misma espina (Smith and Bolam, 1990). Las aferencias glutamatérgicas hacen contacto sináptico con la cabeza de la espina preferentemente y las terminales dopaminérgicas con el cuello de la misma (Ferré et al., 2007; Smith and Bolam, 1990) (Fig. 7).

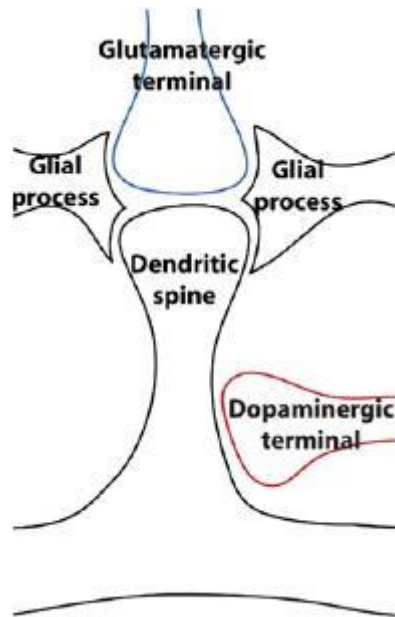


FIGURA 7: Terminales dopaminérgicas y gabaérgicas llegan a la misma espina en las dendritas de las NME (Tomado de Ferré et al., 2007).

Las aferencias de interneuronas llegan a las dendritas cercanas al soma y las aferencias de otros núcleos llegan a las dendritas mas alejadas del soma (Smith and Bolam, 1990). La posición de las terminales dopaminérgicas en la espina y los resultados obtenidos con la manipulación experimental de las concentraciones de DA, han revelado la importante función moduladora de la descarga dopaminérgica en el NA. Sin embargo, la existencia de diferente tipo de NME en el “centro” y en la “corteza”, con su consiguiente diferencia en receptor dopaminérgico, y conexiones, le confieren diferente función a cada región del NA.

Una despolarización continua de la neurona puede originar cambios en el patrón de conectividad sináptica establecida mediante las espinas dendríticas, las cuales son entidades muy dinámicas que pueden sufrir cambios conformacionales

rápidos en respuesta a diferentes grados de estimulación (Harris, 1999). Esto se ha podido observar a partir de estudios relacionados con la actividad hormonal (González-Burgos et al., 2005) o bien, por la actividad de diversos sistemas de neurotransmisión tales como el serotoninérgico (Pérez-Vega et al., 2000) y el dopaminérgico (Robinson and Kolb, 1999). De acuerdo con lo anterior, se ha reportado que la morfología de las espinas se altera bajo condiciones atípicas tales como diversas formas de retraso mental, malnutrición y por el efecto tóxico de drogas adictivas (Blanpied and Ehlers, 2004; Fiala et al., 2002; González-Burgos et al., 2006; Robinson and Kolb, 1999). En el NA se han realizado algunas investigaciones respecto a cambios en la citoarquitectura de sus neuronas, referidos al uso de sustancias de abuso (Brown and Kolb, 2001; Robinson and Kolb, 1997,1999) y a la exposición a un ambiente estimulante (Comery et al., 1996; Kolb et al., 2003).

En cuanto a su forma, las espinas dendríticas, son diversas y han sido clasificadas de acuerdo a las proporciones de sus dos componentes estructurales: la cabeza y el cuello. Así, han sido descritas espinas delgadas, gordas, en hongo, ramificadas (Harris and Stevens, 1989) y recientemente se han agregado las dobles y las anchas (Tarelo-Acuña et al., 2000). Las espinas delgadas presentan un cuello mucho más largo con respecto a la longitud de su cabeza y el diámetro del mismo es ligeramente más estrecho que el de la propia cabeza de la espina (González-Burgos, 2007). En las espinas en hongo, el diámetro del cuello es menor en relación al de la cabeza y, de manera similar, es corto en relación a la longitud de la cabeza de la espina (González-Burgos, 2007). Por su parte, las

espinas gordas y las espinas anchas no muestran distinción entre cuello y cabeza, en el caso de las gordas la longitud total de la espina es igual o menor a su diámetro, mientras que en las anchas la su longitud total es al menos el doble de su diámetro (González-Burgos, 2007). Las espinas ramificadas presentan un cuello de características similares al de las espinas en hongo, aunque con cabeza invaginada; las dobles muestran dos cabezas de diámetro intermedio entre aquel que presentan las delgadas y las en hongo (González-Burgos, 2007) (Fig. 8). Existen otras formas de espinas reportadas para áreas cerebrales específicas que no incluyen a los ganglios basales (González-Burgos, 2007).

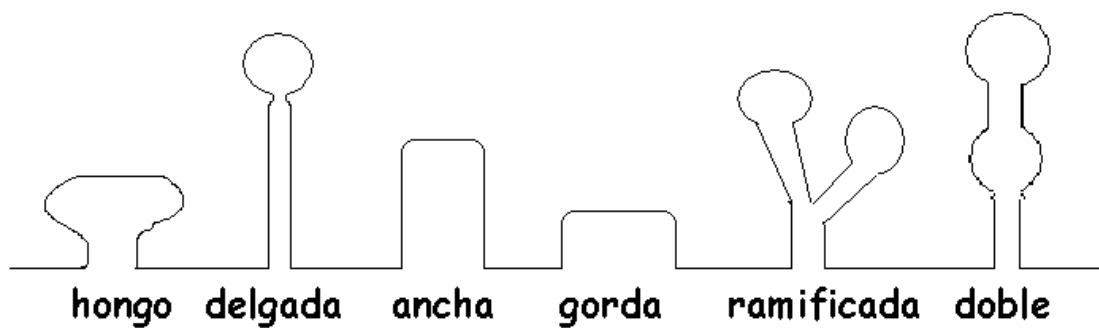


FIGURA 8: Esquema de diversos tipos de espinas, de acuerdo a la descripción de González-Burgos, 2007.

Se han diseñado varios modelos experimentales para el estudio del TDAH (Breese et al., 2005; Davids et al., 2003). Uno de los modelos más utilizados para el estudio experimental de la hiperactividad motora asociada al TDAH es el de la lesión cerebral en ratas neonatas con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Breese et al., 2005; Davids et al., 2003; Paule et al., 2000; Russell, et al., 2005). Estas

manifiestan hiperactividad espontánea muy parecida a la que ocurre en la peri-adolescencia en los humanos (Davids et al., 2003; Zhang et al., 2001), sin dañar funciones sensorio-motoras (Davids et al., 2003). Exhibe además déficit de aprendizaje que responde favorablemente como en los humanos a la administración de estimulantes como las anfetaminas (Zhang et al., 2001; Davids et al., 2003).

La 6-OHDA es una neurotoxina que se forma de manera natural durante el metabolismo de la DA en muy pequeñas cantidades (Cohen and Heikkila, 1974). Esta toxina utilizada en el desarrollo de modelos experimentales, no cruza la barrera hematoencefálica (Garver et al., 1975) por lo que su administración para actuar en el sistema nervioso central debe ser intracerebral. Una vez en el espacio sináptico, la 6-OHDA es introducida a las neuronas catecolaminérgicas mediante sus propios transportadores, ya que esta toxina tienen una gran afinidad por ellos, generando entonces al metabolizarse quinonas y radicales libres los cuales son los causantes de la muerte neuronal (Cohen and Heikkila, 1974; Kostzewa and Jacobowitz, 1974).

ANTECEDENTES

En 1937, Bradley aplicó dosis de benzedrina (anfetamina racémica) a niños con problemas de comportamiento durante una semana, observando una mejoría en su desempeño social y escolar (Barkley, 1998).

Las anfetaminas, especialmente el isómero D, incrementa la cantidad de DA extracelular en el estriado (Kuczenski et al., 1995). El metilfenidato derivado de las anfetaminas, es actualmente el medicamento de elección para el tratamiento del TDAH siendo su mecanismo de acción el bloqueo del transportador de DA (Volkow et al., 1998) y su efecto el aumento de la concentración de este neurotransmisor en el espacio extracelular (Volkow et al., 2001).

Los medicamentos utilizados para controlar los síntomas asociados al TDAH aumentan la concentración de DA en el espacio sináptico, es por esto que uno de los puntos focales en la investigación del TDAH es su relación con la DA. Los estudios clínicos con tomografía de positrones han determinado la sobreexpresión de transportadores de DA (DAT) en los ganglios basales y el NA de pacientes con TDAH (Dresel et al., 2000; Spencer et al., 2007).

Diversos experimentos tanto farmacológicos (Bardgett and Henry, 1999; Breyse et al., 2002; Canales and Iversen, 2000; David et al., 2005; Ouagazzal and Creese, 2000) como electrofisiológicos (Nicola et al., 2004) han puesto de manifiesto la relación del NA y la DA con la hiperactividad que caracteriza al TDAH.

Experimentalmente existe evidencia de que la actividad dopaminérgica en el NA está relacionada con la generación de patrones espontáneos de actividad motora (Jackson et al., 1975; Kelley et al., 1989; Kelly et al., 1975). Específicamente se ha demostrado que la concentración de DA extracelular es dos veces mayor en el “centro” del NA que en la “corteza” de cerebro de rata (McKittrick and Abercrombie, 2007). El aumento de la concentración de DA mediante su administración directa en el NA, incrementa la locomoción (Jones and Mogenson, 1981; Mulder et al., 1996). La reducción de la concentración de DA tiene diferentes efectos. La reducción parcial incrementa la actividad mientras que la reducción total de DA la disminuye (Jones and Robbins, 1992).

Los agonistas a receptores tipo D1 en el “centro” del NA incrementan la actividad, mientras que los agonistas a receptores D2 la disminuyen (David et al., 2004). La administración simultánea de agonistas a D1 y D2 incrementa la locomoción (Canales and Iversen, 2000; David et al., 2004).

El receptor D4 presenta diversos polimorfismos entre ellos el alelo con 7 copias del par de bases 48 del tercer exón que está relacionado con el TDAH (Faraone et al., 2001; Sunohara et al., 2000). Se ha demostrado que la lesión neonatal con 6-OHDA produce una sobreexpresión de receptores D4 cuya densidad está relacionada directamente con la hiperactividad (Zhang et al., 2001).

La concentración de DA en el NA depende del adecuado funcionamiento del circuito corticoestriatal, en el cuál intervienen otros neurotransmisores como glutamato, GABA y acetilcolina (Ferré, et al., 2007). Las aferencias

glutamatérgicas del subículo ventral del hipotálamo hacia el NA, elevan las concentraciones de DA en este último (Legault et al., 2000). Las terminales dopaminérgicas y glutamatérgicas que llegan al NA, así como las NME tienen receptores NMDA y noNMDA (Tarazi et al., 1998). El bloqueo de eferencias gabaérgicas en el NA hacia el Pálido ventral mediante la inyección de antagonistas de GABA origina hiperactividad (Mulder et al., 1996).

Jones y Mogenson (1981), evaluaron la posible contribución de las aferencias colinérgicas, serotoninérgicas y gabaérgicas en el incremento de la actividad motora tras la administración de DA en el NA. Ningún neurotransmisor tuvo una influencia determinante en la actividad motora, solo los agonistas y antagonistas de la serotonina la disminuyeron en poca proporción.

La relación de la DA con el glutamato se ha evidenciado en varios trabajos. La activación de receptores glutamatérgicos metabotrópicos tipo I (Swanson and Kalivas, 2000) y II (Breysse et al., 2002; Swanson and Kalivas, 2000) pero no los tipo III (Swanson and Kalivas, 2000) mediada por actividad dopaminérgica produce hiperlocomoción. La estimulación de receptores D1 incrementa la expresión de receptores Glu1 y este modula la internalización de AMPA (Chao et al., 2002). David y colaboradores (2004) concluyeron que los receptores NMDA tienen una acción agonista con los receptores tipo D1 y antagonista con los receptores tipo D2, mientras que los no-NMDA tienen acción opuesta en el “centro” del NA.

Los resultados de investigaciones sobre actividad dopaminérgica relacionan al “centro” del NA con la inducción experimental de hiperlocomoción (David et al., 2004; Parkinson et al., 1999; Pothuizen et al., 2005).

Existen varios modelos animales propuestos para el estudio del TDAH realizados mediante manipulación farmacológica (Breese, et al., 2005; Davids et al., 2003; Mietus et al., 2003; Russell et al., 2005) o genética (Viggiano et al., 2003). El modelo de lesión neonatal con 6-OHDA disminuye la concentración de DA en el estriado y origina hiperactividad (Breese et al., 2005; Breese y Traylor 1971; Davids et al., 2003; Mietus et al., 2003; Russell et al., 2005).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Núcleo Accumbens participa directamente en la organización de la motricidad asociada a la motivación y la atención. Dicho proceso es afectado en cuadros clínicos relacionados con el Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad. En este trastorno la actividad dopaminérgica es responsable de las alteraciones en la motricidad dependiente de estímulos apetitivos. Existe evidencia de modificaciones en la citoarquitectura de las neuronas del Núcleo Accumbens relacionadas con variaciones en la neurotransmisión dopaminérgica; sin embargo, no existe información acerca de posibles cambios citoarquitectónicos en dichas neuronas que pudieran relacionarse con la hiperactividad motora asociada a la actividad dopaminérgica alterada en el Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad.

HIPOTESIS

La alteración de la transmisión dopaminérgica en el Núcleo Accumbens subyacente a hiperlocomoción, provoca modificaciones en la citoarquitectura de las neuronas del “centro” de dicho núcleo.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la citoarquitectura de las neuronas medianas espinosas del “centro” del Núcleo Accumbens, tras inducción de hiperlocomoción con 6-hidroxidopamina; en ratas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1 Caracterizar el patrón de arborización dendrítica.
- 2 Cuantificar la densidad de espinas dendríticas.
- 3 Cuantificar los tipos de espinas dendríticas.

MATERIAL Y METODOS

Material biológico

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, los cuales permanecieron en condiciones controladas de 12/ 12 h de luz/ oscuridad y sin restricción de alimento y agua.

Fueron divididos en tres grupos: un grupo experimental, un grupo control y un grupo testigo intacto, cada uno procedente de al menos tres camadas y conformado por 10 individuos.

Lesión Farmacológica

A los cinco días de edad, a los animales del grupo experimental se les administró 25 mg/kg de desipramina por vía subcutánea; cuarenta y cinco minutos después, se anestesiaron por hipotermia y se les administró 100 µg de 6-hidroxidopamina base, disuelta en solución salina y con 0.1% de ácido ascórbico, por vía intracerebroventricular en la cisterna magna. El grupo control recibió el mismo tratamiento, excepto la aplicación de la 6-OHDA (Zhang et al., 2001).

Evaluación de la actividad motora

Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 6:00 a.m. y las 10 a.m. en ausencia de agua y comida. La actividad motora se evaluó a los 27 días de edad de la rata, edad comprendida dentro del periodo de mayor actividad en condiciones experimentales (Zhang et al., 2001; Zhang 2002; Davids et al., 2003).

La actividad motora se evaluó mediante un actímetro (Panlab), el cual, consiste en un campo abierto de 45 x 45 cm delimitado por cuatro paredes de

acrílico transparente, externo a las cuales se encuentra un cuadro horizontal con fotoceldas emisoras y receptoras de 16 haces infrarrojos por lado. Este aparato registra automáticamente el número de interrupciones de los haces infrarrojos, que ocurren durante el desplazamiento del animal, mediante un programa de cómputo específico (Acti-Track 2.7.8).

La cuantificación de la actividad motora se realizó en todos los individuos por periodos de 5 minutos durante media hora.

Sacrificio de los animales:

El sacrificio de todos los individuos del estudio se realizó al siguiente día de la evaluación conductual. Cuatro ratas por grupo, cuyos cerebros se utilizaron para la evaluación de la lesión farmacológica, fueron sacrificadas por decapitación. En el caso de las ratas utilizadas para la evaluación morfológica, el sacrificio se realizó mediante perfusión para obtener muestras de cerebro libres de tejido sanguíneo y que permitieran una mejor observación al microscopio.

Para la perfusión, los animales se anestesiaron colocándolos en una campana de vidrio que contenía torundas empapadas con éter. La perfusión se realizó vía intracardiaca con 150 ml de una solución amortiguadora a base de fosfatos (pH 7.4, 0.1M), con 1000 UI de heparina sódica como anticoagulante y 1 g/L de clorhidrato de procaína como vasodilatador, continuando con la perfusión de 200 ml de formaldehído al 4% en amortiguador de fosfatos, como solución fijadora. Ambas soluciones fueron perfundidas a una presión de 150 cm de agua. Inmediatamente después de la perfusión, el cerebro se obtuvo por craneotomía y se colocó en 100 ml de solución fijadora, por al menos 48 h.

Evaluación de la lesión farmacológica

Para evaluar la eficacia de la lesión farmacológica, se cuantificó la cantidad de dopamina. Esto se realizó en el estriado de la rata mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Para ello, al concluir la decapitación, se extrajo el cerebro y se realizó la disección de un bloque de tejido del cuerpo estriado, el cual se pesó y se conservó en ácido perclórico (0.2 mol/L) a -30° C, hasta el momento de su análisis. Se homogenizó a 12,000 rpm y el sobrenadante correspondiente se utilizó para realizar la cuantificación de dopamina.

Análisis morfológico:

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS: Una vez transcurrido el tiempo de fijación, el cerebro se disectó para obtener bloques de tejido nervioso, coronales de $200\mu\text{m}$ de espesor, conteniendo las regiones “centro” y “corteza” del NA, los cuales fueron procesados para su impregnación metálica mediante una modificación (González-Burgos et al., 1992) al método rápido de Golgi:

- Se utilizó una solución indurante de 50ml de dicromato de potasio al 2%, 10 ml de formaldehído al 40% y 2.5 ml de ácido acético glacial. Se incubó el tejido en esta solución por 24 Horas a 30° C. Cubierto el tiempo, se renueva la solución indurante y se vuelve a incubar 24hora a 30°C .. Posteriormente se decanta y se realizan tres enjuagues de 10 min. cada uno. Se agrega el tejido a la solución impregnadora de nitrato de plata al 0.75% a la cual se añadió 5 μl de ácido fórmico. Se incuba por 48 horas. Posteriormente se obtuvieron bloques de $150\mu\text{m}$ para su observación al microscopio.

ARBORIZACIÓN DENDRÍTICA: Se estudiaron seis neuronas por animal y considerando la $n=6$ de cada grupo, se obtuvieron 36 cuantificaciones. La arborización dendrítica se evaluó por el método de conteo de bifurcaciones mediante observación directa en el microscopio de luz transmitida. El criterio de selección de cada dendrita fue: que se pudiera observar desde su inicio en el soma hasta el final con suficiente claridad y sin interferencia de otras dendritas o vasos sanguíneos.

DENSIDAD Y TIPO DE ESPINAS: Se evaluó una neurona por individuo y una dendrita de cada una, es decir, si consideramos que la $n=6$ en cada uno de los tres grupos, fueron 6 dendritas por grupo. De cada dendrita se analizaron dos segmentos de $25\ \mu\text{m}$, uno proximal al soma y otro distal. El criterio de selección incluyó además de los puntos mencionados para la arborización dendrítica, el que contara con al menos $100\ \mu\text{m}$ de longitud para se pudieran evaluar los dos segmentos. El segmento proximal se consideró a los $20\ \mu\text{m}$ del soma. Se registraron el tipo de espina: delgada, gorda, en hongo, ancha, doble y ramificada, y la cantidad de cada una por segmento. La densidad se consideró como número total de espinas por segmento ($25\ \mu\text{m}$). La densidad por tipo de espina se consideró como las veces que se presentó cada forma de espina en el segmento.

Análisis estadísticos

Los resultados fueron comparados mediante análisis de varianza (ANOVA) y la prueba post hoc de Tukey, También se presenta la densidad de espinas y la proporción de cada tipo de espina por segmento.

RESULTADOS:

La validación del modelo experimental constó de dos evaluaciones: 1) de la inducción de hiperactividad mediante el registro de la actividad motora, y; 2) de la disminución de la concentración de DA en el cuerpo estriado de los individuos lesionados.

Evaluación de la actividad motora:

El análisis estadístico de este registro reveló una diferencia significativa ($p < 0.025$) entre los grupos testigo, control y experimental, a los veinte ($F = 4.839$, $p = 0.016$), veinticinco ($F = 8.579$, $p = 0.001$) y treinta minutos ($F = 14.795$, $p = 0.000$). La prueba post hoc de Tukey reveló los siguientes resultados: el grupo experimental tratado con 6-OHDA tuvo una mayor actividad motora respecto al grupo testigo a los 20 ($p < 0.013$), 25 ($p < 0.002$) y 30 minutos ($p < 0.000$). Así mismo, el grupo experimental mostró una mayor actividad motora respecto al grupo control a los 25 ($p < 0.008$) y a los 30 minutos ($p < 0.000$) (Fig. 9).

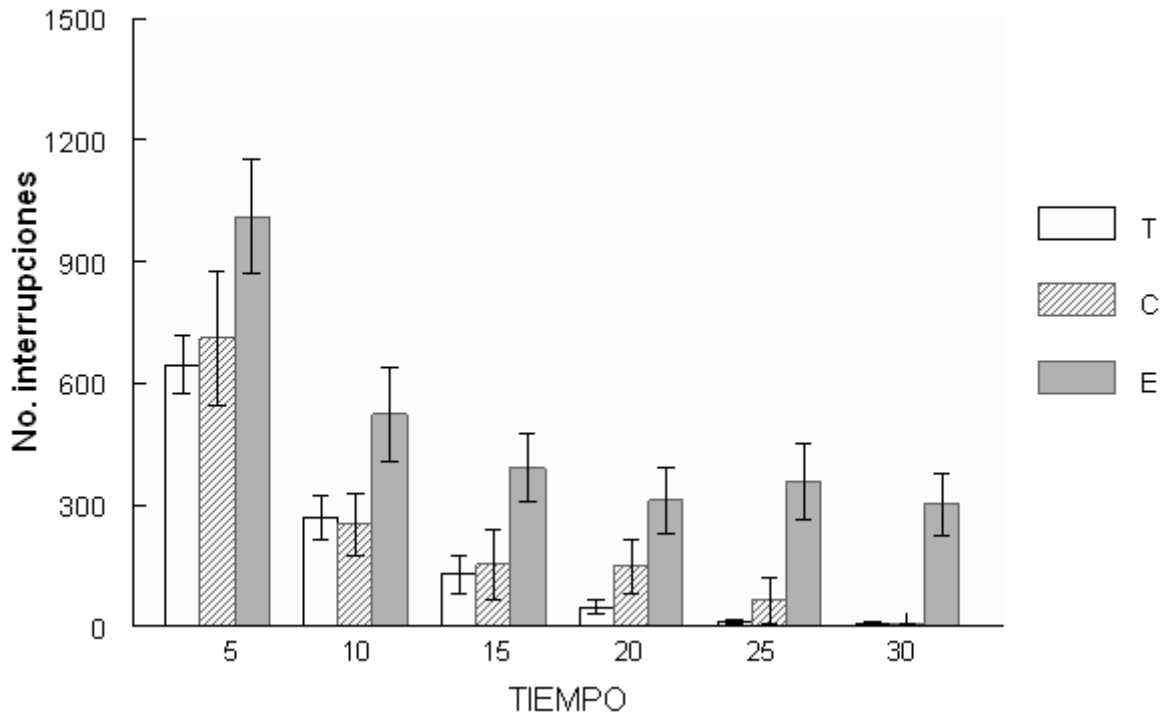


FIGURA 9: Gráfica que muestra el número total de movimientos generados por grupo durante los 6 periodos de tiempo estudiados. T: grupo testigo; C: grupo control; E: grupo experimental. Media \pm E:E:M. *: $p < 0.05$.

Con el objetivo de poder expresar formalmente la diferencia entre los datos, resultado de la experimentación, los valores promedio del número de interrupciones en intervalos dados (5 minutos), se ajustaron mediante el procedimiento de mínimos cuadrados (Burden y Faires, 1996), usando una función exponencial del tipo $y = be^{ax}$.

Para los diferentes conjuntos de valores las funciones encontradas son:

Grupo	Curva ajustada
Testigo	$y = 1910.57e^{-0.1954x}$
Control	$y = 1900.06e^{-0.1662x}$
Experimentación	$y = 916.59e^{-0.0423x}$

Las gráficas correspondientes se presentan en la figura 10. En donde el valor del coeficiente α , permite ver que la curva del grupo de experimentación difiere grandemente con los otros dos grupos y aún cuando se extienda el tiempo no coincidirán en valores.

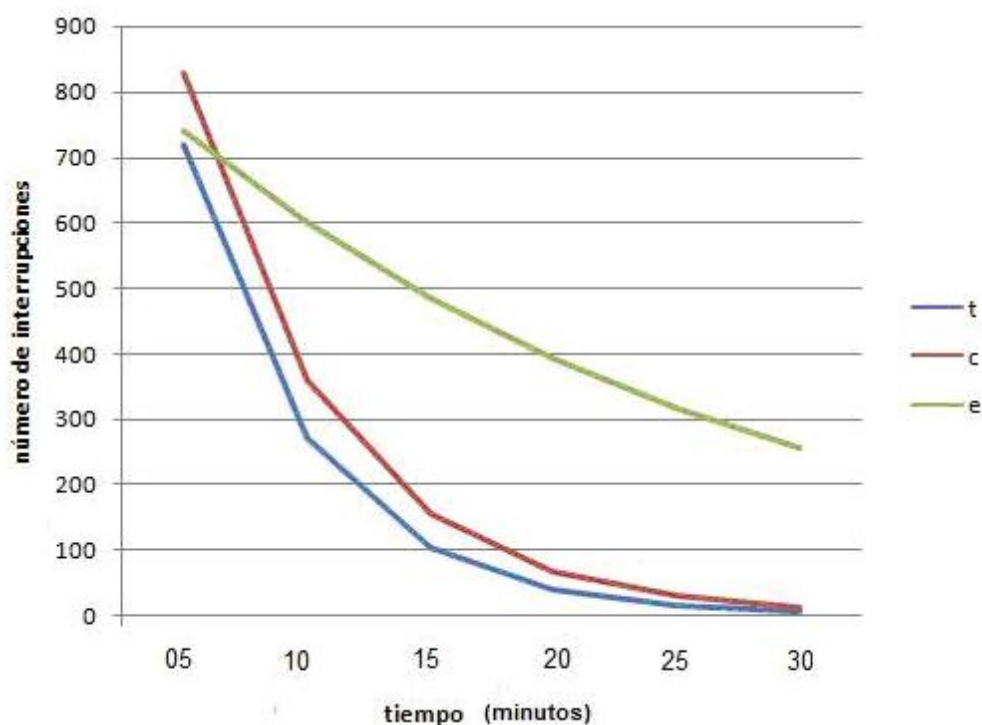


FIGURA 10: ajuste de curva exponencial $y = be^{ax}$, utilizando el método de los mínimos cuadrados.

Evaluación de la lesión farmacológica

La cuantificación de la concentración de DA en el estriado, se determinó mediante HPLC. El tiempo de retención obtenido fue 5.29 ± 0.09 min. El análisis

estadístico (ANOVA) mostró una diferencia significativa entre los tres grupos estudiados. La concentración de DA en el grupo experimental fue menor respecto al grupo testigo ($p < 0.037$) como respecto al grupo control ($p < 0.032$). No se observó diferencia significativa entre los grupos testigo y control (Fig. 11).

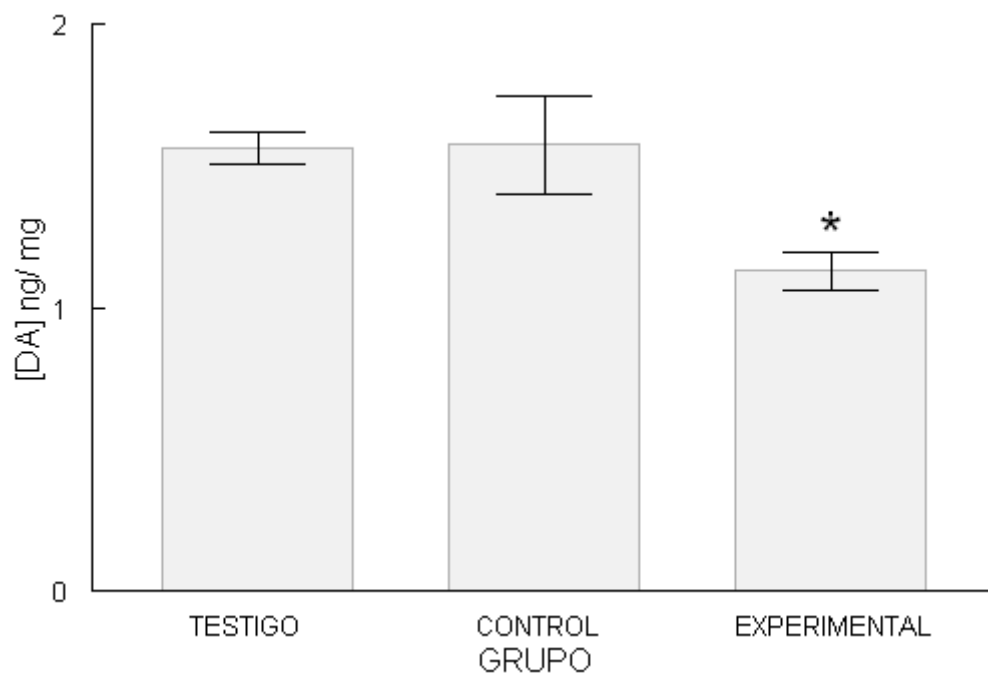


FIGURA 11. Efecto de la administración intracisternal de 6-OHDA en ratas neonatas. Los resultados se expresan como ng de DA por miligramo de tejido. La gráfica muestra los tres grupos analizados y se observa el descenso significativo () en la concentración de DA en las muestras del grupo experimental.*

La concentración de DA estriatal disminuyó 5% en el grupo control 48% en el grupo experimental, respecto al grupo testigo intacto.

Análisis morfológico.

Las neuronas analizadas fueron elegidas del área alrededor de la comisura anterior entre 2.7 y 0.7mm respecto a bregma, que de acuerdo al Atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986) corresponde al “centro” del NA. La figura 12 muestra una serie de fotomicrografías a diferentes aumentos de cortes teñidos con violeta de cresilo donde se observa la comisura anterior alrededor de la cual se sitúa el “centro” del NA. Las fotos A, B y C corresponden al inicio de la región “centro” del NA y las fotos A1, B1 y C1 corresponden al final de dicha región. Las neuronas seleccionadas para este trabajo fueron elegidas del área inmediata a la comisura anterior (Fig. 12).

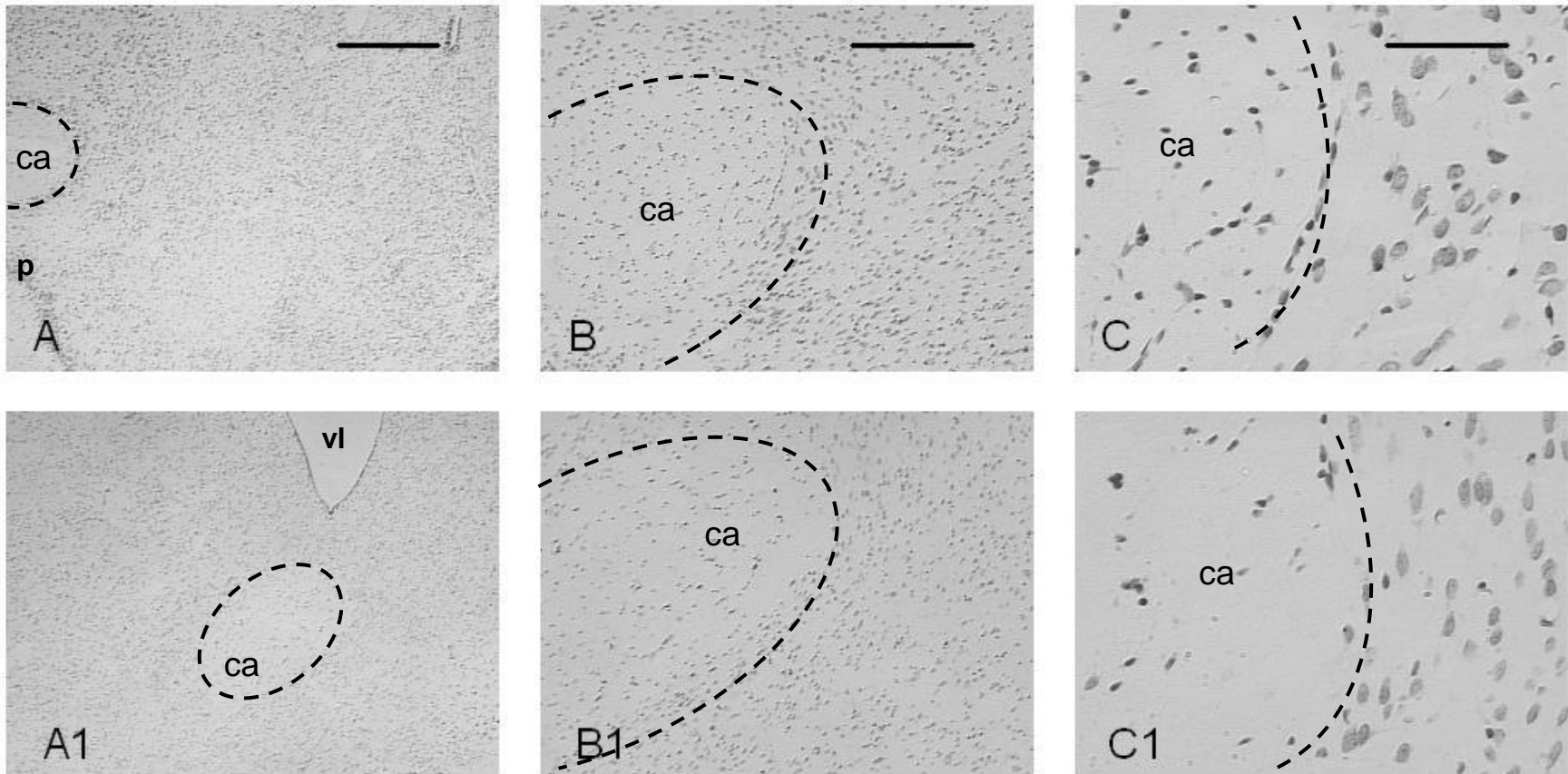


Figura 12: Fotomicrografías de cortes coronales de cerebro de rata teñidas con violeta de cresilo. Se observan ampliificaciones crecientes del NA en su porción más rostral (A, B, C) y más caudal (A1, B1, C1). El “centro” del NA se ubica alrededor de la comisura anterior (ca). ventriculo lateral (vl), corteza piriforme (p). Escala A-A1:200 μm ; Escala B-B1: 100 μm ; Escala C-C1: 50 μm .

ARBORIZACIÓN DENDRÍTICA

El conteo de las bifurcaciones de las dendritas de las NME del “centro” del NA realizado mediante observación directa al microscopio, no reveló diferencia significativa entre los grupos. El número de bifurcaciones varió de 3 a 13 por dendrita.

DENSIDAD Y TIPO DE ESPINAS:

La densidad de espinas fue de 32 a 55 en cada segmento de 25 μm . No se encontró diferencia significativa entre segmentos ni entre grupos (Fig. 13).

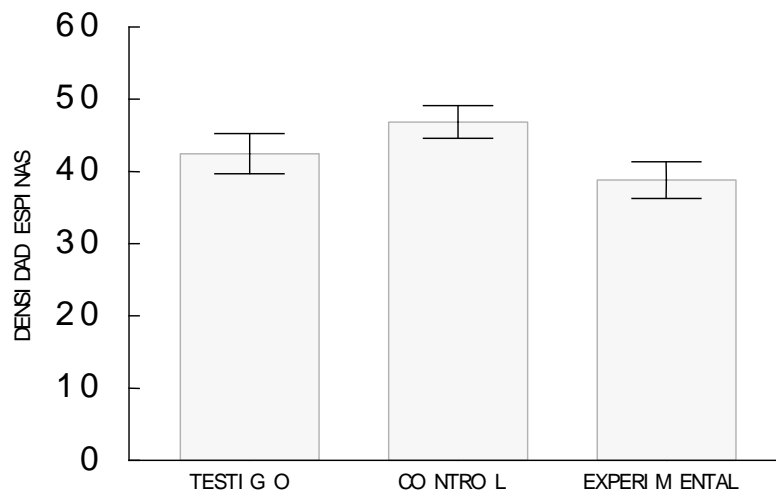


FIGURA: 13: Densidad de espinas. No. De espinas por segmento de 25 μm .

Las formas de las espinas observadas en los tres grupos de estudio tanto en los segmentos proximales como distales fueron: delgadas, gordas, en hongo, anchas, bifurcadas y dobles (Fig. 14).

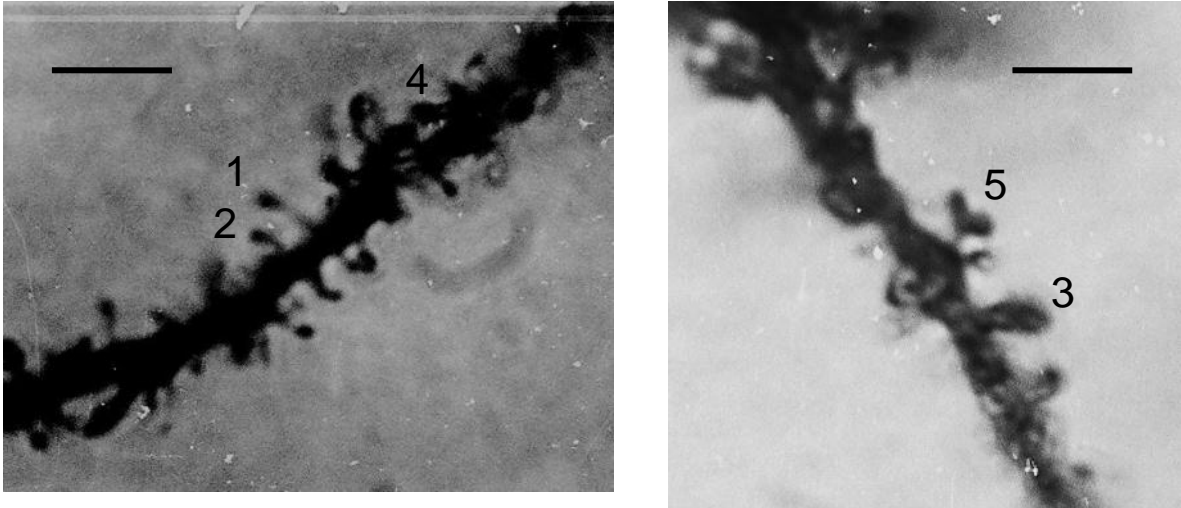


FIGURA 14: Se observaron espinas delgadas (1), en hongo (2), anchas (3), gordas (4) y bifurcadas (5), tanto en los segmentos proximales como en los distales de los tres grupos analizados. Escala: 5 μ m.

La forma que se presentó con más frecuencia en los tres grupos tanto en el segmento proximal como en el distal fue la delgada, que en porcentaje representó casi el 60%, le siguieron las de hongo 21-26%, las gordas de 10-11.2%, las anchas 7-8% y el resto alrededor del 2.5%. La menos frecuente fue la doble (Fig. 15).

PORCENTAJE DE FORMAS DE ESPINAS ENCONTRADAS POR GRUPO Y SEGMENTO

GRUPO		DELGADA	GORDA	HONGO	ANCHA	BIFURCADA	DOBLE	%TOTAL
TESTIGO	P	57.14	12.94	23.01	6.20	0.45	0.26	100
	D	55.26	11.29	25.75	7.22	0.12	0.36	100
CONTROL	P	59.78	11.33	21.45	6.89	0.24	0.30	100
	D	59.45	10.16	22.09	7.69	0.33	0.28	100
EXPERIM	P	60.48	13.27	18.50	6.66	0.69	0.40	100
	D	60.07	10.58	21.25	7.09	0.41	0.60	100

FIGURA 15: En esta figura se refiere el porcentaje que representó cada forma de espina en el segmento proximal (P) y distal (D) de cada grupo evaluado.

DISCUSIÓN:

El objetivo de este trabajo fue relacionar la hiperactividad generada por la falta de DA en el “centro” del NA, con la citoarquitectura de sus neuronas. Para esto, se eligió el modelo de lesión neonatal con 6-OHDA (Breese and Traylor, 1971; Shaywitz et al., 1976; Zhang et al., 2002) el cual, reduce la cantidad de fibras dopaminérgicas que inciden en el NA y origina una exacerbación motora que se asemeja a la presente durante la periadolescencia en los humanos que padecen TDAH (Shaywitz et al., 1976; Zhang et al., 2002). Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas entre los tres grupos (testigo, control y experimental) en cuanto a los parámetros morfológicos considerados.

La densidad de espinas fue de 9.9 a 12 espinas/ μm , en los tres grupos y en los dos segmentos. La proporción de las diferentes formas de espinas en los segmentos proximales y distales también fue similar en los tres grupos. Smith y Bolam, (1990) al analizar la conectividad de las espinas de las NME observaron que en el área distal de las dendritas respecto al soma, se realizaba la sinápsis con las aferencias procedentes de estructuras externas al NA, es por esto que era importante observar diferencias entre los segmentos proximales y distales de las dendritas, sin embargo, no se encontró diferencia.

Anterior a este trabajo no existe reporte de tipos de espina para el NA. Los datos encontrados concuerdan con lo reportado en otras áreas del cerebro como

en el hipocampo (Harris et al., 1992; Pérez-Vega et al., 2000) y en la corteza prefrontal (Tarello-Acuña et al., 2000).

Actualmente la investigación en torno a la citoarquitectura del NA se basa en la influencia que tienen sobre ésta las sustancias de abuso (Brown and Kolb, 2001; Robinson and Kolb, 1997; 1999; 2004) y poco se ha referido, a la relación directa que guarda la hiperactividad con la morfología neuronal. Los cambios plásticos en el NA, relacionado con la disminución de DA, por lesión de terminales dopaminérgicas o por los cambios generados ante la administración de sustancias de abuso, se han analizado en la “corteza” (Brown and Kolb, 2001; Robinson and Kolb, 1997; 1999; 2004). Las diferencias bioquímicas de las neuronas de cada región del NA, así como su conectividad, hace que estas subdivisiones tengan diferentes funciones y respuesta ante los cambios inducidos, por lo tanto no se pueden comparar directamente los resultados reportados en la literatura para la corteza y los obtenidos en este trabajo. Se ha demostrado que la inducción de cambios en la densidad de espinas y en la estructura dendrítica en el “centro” ante la administración de cocaína, depende de la presencia de un ambiente novedoso, mientras que para la “corteza” esto no es necesario y ocurren cambios morfológicos en cualquier tipo de ambiente (Li et al., 2004).

Los resultados encontrados en este trabajo no muestran relación significativa entre la hiperactividad y la citoarquitectura de las NME del “centro” del NA. En este punto podemos mencionar el trabajo realizado por Robinson y Kolb

(1999), quienes después de 4 semanas de ejercitar a un grupo de ratas sin tratamiento, encontraron que la densidad de espinas en la “corteza” del NA disminuyó respecto al control. Los cambios en la citoarquitectura reportados para el “centro” están en relación con la exposición a ambientes novedosos (Li et al., 2004) no con hiperactividad.

En cuanto al modelo elegido para reproducir la hiperactividad característica del TDAH, este es, el de lesión neonatal con 6-OHDA, se aplica siguiendo diferentes protocolos, lo que dificulta una comparación directa de los resultados. Por ejemplo, la inducción de la lesión ocurre entre los días 3 post natal (PN) (Luthman et al., 1997) y 13 PN (Breese and Traylor, 1971), siendo más común los días 5 PN (Davids et al., 2002; Masuo et al., 2004; Zhang et al., 2001; 2002). Algunos autores modifican el día de prueba para la actividad motora, variando desde el día 21 PN (Zhang et al., 2001) hasta el día 83 PN (Luthman et al., 1997). Zhang y colaboradores (2002), realizaron una prueba piloto de hiperactividad en ratas a las que se les indujo esta lesión siguiendo el método propuesto por Shaywitz y colaboradores (1976) encontrando que la actividad motora alcanza su máximo al día 25 PN y desaparece después del día 35 PN, por lo tanto proponen realizar las pruebas de actividad motora alrededor del día 25 PN. Para Luthman y colaboradores (1976) en cambio, la presencia de hiperactividad hasta la edad adulta va en proporción a la dosis de 6-OHDA recibida y concluyen que la mejor dosis es la de 100µm de 6-OHDA libre de base aplicada al día 3 PN en el ventrículo derecho y repetida el día 6 PN en el ventrículo izquierdo. La hora y la

duración de la prueba de locomoción, también difiere. En este caso, fue aplicada durante el día, ya que siendo la rata un animal de hábitos nocturnos, se esperaba un comportamiento exploratorio durante un breve periodo de tiempo que después cedería. Esto ocurrió en los animales de los grupos control y testigo, pero no en los correspondientes al grupo experimental, que continuaron con actividad motora incrementada durante largo tiempo. Los resultados obtenidos en esta prueba concuerdan con los descritos por Davids y colaboradores en 2002 y por Zhang y colaboradores en 2001 y 2002., donde en los primeros minutos se reporta actividad semejante entre grupos y actividad motora incrementada en el último periodo de tiempo para el grupo tratado. Los resultados obtenidos en este trabajo son que en los primeros 15 min de la prueba de actividad motora, no hay diferencia entre grupos y en los últimos 15 min se registra un incremento significativo de actividad en el grupo experimental.

Otra diferencia en la manera de aplicar el modelo es la utilización de ratas hembras o macho. Se ha demostrado que los estrógenos en las hembras alteran la citoarquitectura de las neuronas (González-Burgos et al., 2005). Algunos autores utilizan hembras de edad joven (Robinson and Kolb, 1999), en este trabajo se trabajó con machos.

Aunque actualmente la investigación respecto a la plasticidad cerebral se centra en la morfología de dendritas y espinas dendríticas (Robinson and Kolb, 2004), la investigación en torno al NA y su citoarquitectura, se enfoca

principalmente en la influencia que tienen las sustancias de abuso. Siendo esta estructura un área de influencia cortical y límbica y de cuya activación depende la supervivencia o el comportamiento motor apropiado, la investigación debe ampliarse.

CONCLUSIONES:

El NA no realiza sus funciones de manera aislada. La regulación de la locomoción y la motivación dependen del funcionamiento y la comunicación con otras estructuras mediante diferentes circuitos. Estas estructuras son la corteza prefrontal, otros núcleos de los ganglios basales y el tálamo, que interactúan con el NA a través de los circuitos directo e indirecto. La importancia de la DA en el NA para la adecuada actividad motora, se ha reportado en muchos estudios clínicos y experimentales, en los cuales se ha podido relacionar con el TDAH.

Este trabajo demostró, que el abatimiento del 48% en la concentración de DA en el “centro” del NA, incrementa la actividad motora sin alterar la citoarquitectura de sus neuronas.

REFERENCIAS:

- 1 Alheid, G.F., Heimer, L. (1988). New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience* 27: 1–39.
- 2 American Psychiatric Association. (1994) Diagnostic and statistical manual of mental disorders. (4th ed.) (DSM-IV). Washington, DC: APA.
- 3 Bahena-Trujillo, R., Flores, G. and Arias-Montaña, J.A. (2000) Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Rev Biomed* 11:39-60.
- 4 Barckley, R.A. (1998) Attention-deficit hyperactivity disorder. The Guilford Publications, Inc. U.S.A. pp. 628.
- 5 Bardgett, M.E., Henry, J.D. (1999) Locomotor activity and accumbens Fos expression driven by ventral hippocampal stimulation require D1 and D2 receptors. *Neuroscience*. 94:59-70.
- 6 Bayés, M., Ramos, J.A., Cormand, B., Hervás-Zúñiga, A., del Campo, M., Duran-Tauleria, E., Ribasés, M., Vilella-Cuadrada, E., Diego-Otero, Y., Casas-Brugué, M. y Estivill, X. (2005) Genotipado a gran escala en la investigación del trastorno del espectro autista y el trastorno por déficit de atención con hiperactividad. *Rev. Neurol.* 40 (Supl 1):S187-S190.

- 7 Berendse, H.W., Galis-de Graaf, Y., Groenewegen, H.J. (1992) Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J Comp Neurol* 316: 314–347.
- 8 Biederman J, Spencer T. (1999) Attention-deficit/hyperactivity Disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol Psychiatry*, 46: 1234-42.
- 9 Biederman, J. (2005) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Selective. *Biol Psychiatry*, 57:1215–1220
- 10 Blanpied, T.A., Ehlers, M.D. (2004) Microanatomy of dendritic spines: emerging principles of synaptic pathology in psychiatric and neurological disease. *Biol. Psychiatry*. 55:1121-1127.
- 11 Bradley, Ch. (1937) The behavior of children receiving benzedrine. *Am J Psychiatry* 94:577–585.
- 12 Breese, G.H., Traylor T.D. (1971) Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. *J. Pharmac.* 42, 88-99.
- 13 Breese, G., Knapp, D.J., Criswell, H.E., Moy, S.S., Papadease, S.T., Blake, B.L. (2005) The neonate-6-hydroxydopamine-lesioned rat: a model for clinical neuroscience and neurobiological principles *Brain Research Reviews* 48: 57–73
- 14 Breyse, N., Risterucci, C. and Amalric, M. (2002) D1 and D2 dopamine receptors contribute to the locomotor response induced by group II MGlurs activation in the rat nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73:347-357.
- 15 Brown, R.W., Kolb, B. (2001) Nicotine sensitization increases dendritic length and spine density in the nucleus accumbens and cingulate cortex. *Brain Res.* 899:94-100.
- 16 Burden R.L. and Faires J.D. (1996) *Análisis Numérico*, segunda edición, Grupo Editorial Ibero América SA de CV, México
- 17 Canales, J.J., Iversen, S.D. (2000) Psychomotor-activating effects mediated by dopamine D2 and D3 receptors in the nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67:161-168.
- 18 Carpenter, M.B. (1984) Interconnections between the corpus striatum and brain stem nuclei. En: *The Basal Ganglia*. McKenzie, J.S., Kemm, R.E., Wilcock, L.N. (eds.). Serie: *Advances in Behavioral Biology*. Plenum Press. U.S.A. pp. 1-68.
- 19 Castellanos, F.X., Acosta, M.T. (2002) El síndrome de déficit de atención con hiperactividad como expresión de un trastorno funcional orgánico *Rev Neurol* 35: 1-11.
- 20 Clements, A.D. (1992) The incidence of attention deficit-hyperactivity disorder in children whose mothers experienced extreme psychological stress. *Ga. Educ. Res.* 91:1-14.
- 21 Cohen, G., Heikkila, R.E. (1974) The generation of hydrogen peroxide, superoxide radical and hydroxyl radical by 6-hydroxydopamine, dialuric acid, and related cytotoxic agents. *J Biochem* 249:2447–2452
- 22 Comery, T.A., Stamoudis, C.X., Irwin, S.A., Greenough, W.T. (1996) Increased Density of Multiple-Head Dendritic Spines on Medium-Sized Spiny Neurons of the Striatum in Rats Reared in a Complex Environment. *Neurobiology of Learning and Memory* 66: 93-96.

- 23 Cooper, J.R. (2003) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. Cap.9 Dopamine. Eighth edition pp. 225-270
- 24 Chao, S.Z., Ariano, M.A., Peterson, D.A., Wolf, M.E. (2002) D1 dopamine receptor stimulation increases GluR1 surface expression in nucleus accumbens neurons. *Journal of Neurochemistry* 83: 704–712
- 25 Churchill, L., Kalivas, P.W. (1994) A topographically organized gamma-aminobutyric acid projection from the ventral pallidum to the nucleus accumbens in the rat. *J.Comp. Neurol.* 345:579-595.
- 26 David, H.N., Ansseau, M., Abbraini, J.H., (2005) Dopamine-glutamate reciprocal modulation of release and motor responses in the rat caudate-putamen and nucleus accumbens of “intact” animals. *Brain Res. Rev.* 50:336-360.
- 27 David, H.N., Sissaoui, K., Abbraini, J.H. (2004) Modulation of the locomotor responses induced by D1-like and D2-like dopamine receptor agonists and D-amphetamine by NMDA and non-NMDA glutamate receptor agonists and antagonists in the core of the rat nucleus accumbens. *Neuropharmacology* 46:179–191.
- 28 Davids, E., Zhang, K., Tarazi, F.I., Baldessarini, R.J., (2002) Stereoselective effects of methylphenidate on motor hyperactivity in juvenile rats induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning. *Psychopharmacology* 160:92–98
- 29 Davids, E., Zhang, K., Tarazi, F.I., Baldessarini, R.J. (2003) Animal models of attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Res.* 42:1-21.
- 30 Dongen, Y.A., Deniau, J.M., Pennartz, C.M.A., Galis-de Graaf, Y., Voorn, P., Thierry A.M. and Groenewegen, H.J. (2005) Anatomical evidence for direct connections between the shell and core subregions of the rat nucleus accumbens. *Neuroscience.* 136:1049-1071.
- 31 Dresel, S., Krause, J., Krause, K-H., LaFougere, C., Brinkbäumer, K., Kung, H.F., Hahn, K., Tatsch, K. (2000) Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [99mTc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *Eur J Nucl Med* 27:1518–1524.
- 32 Faraone, S.V., Biederman, J. (1998) Neurobiology of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Biol Psychiatry* 44: 951-8.
- 33 Faraone, S.V., Doyle, A.E., Mick, E., Biederman, J. (2001) Meta-Analysis of the Association Between the 7-Repeat Allele of the Dopamine D4 Receptor Gene and Attention Deficit Hyperactivity Disorder *Am J Psychiatry* 158:1052–1057.
- 34 Faraone SV, Sergeant J, Gillberg C, Biederman J (2003): The worldwide prevalence of ADHD: Is it an American condition? *World Psychiatry* 2:104 – 113.
- 35 Fernández-Espejo, E. (2000) ¿Cómo funciona el núcleo accumbens? *Rev. Neurol.* 30:845-849.
- 36 Ferré, S., Agnati, L.F., Ciruela, F., Lluís, C., Woods, A.S., Fuxe, K., Franco, R. (2007) neurotransmitter receptor heteromers and their integrative role in “local modules”: The striatal spine module. *Brain Research Reviews*, 55 (1): 55-67
- 37 Ferré, S., Fredholm, B.B., Morelli, M., Popoli, P., Fuxe, K., 1997. Adenosine-dopamine receptor–receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia. *Trends Neurosci.*20: 482–487.

- 38 Fiala, J.C., Spacek, J. and , Harris, K.M. (2002) Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res. Brain Res. Rev.* 39:29-54.
- 39 Franco, R., Lluís, C., Canela, E.I., Mallol, J., Agnati, L., Casado, V., Ciruela, F., Ferre, S., Fuxe, K. (2007) Receptor–receptor interactions involving adenosine A1 or dopamine D1 receptors and accessory proteins *J Neural Transm.* 114: 93–104
- 40 Garver, D.L., Cedarbaum, J., Maas J. W. (1975) Blood-brain barrier to 6-hydroxydopamine: Uptake by heart and brain. *Life Sciences* (7): 1081-1084
- 41 Girault, J.A., Greengard, P. (2004) The neurobiology of dopamine signaling. *Arch. Neurol.* 61:641-644.
- 42 González Burgos, I. (2007) Neurobiología de las espinas dendríticas. En: De Celis, R. (Ed.). *Investigación en Neurociencias “Dr. Alfredo Feria Velasco”*. Bios-Médica Editores. Guadalajara. pp. 45-56. ISBN: 968-9115-00-6.
- 43 González-Burgos, I., Alexandre-Gómez, M., Cervantes, M. (2005) Spine-type densities of hippocampal CA1 neurons vary in proestrus and estrus rats. *Neurosci. Lett.* 379:52-54.
- 44 González-Burgos, I., Alexandre-Gómez, M., Olvera-Cortés, M.E., Pérez-Vega, M.I., Evans, S., Feria-Velasco, A. (2006) Prenatal-through-postnatal exposure to moderate levels of ethanol leads to damage on the hippocampal CA1 field of juvenile rats. A stereology and Golgi study. *Neurosci. Res.* 56(4):400-408.
- 45 González-Burgos, I., Tapia-Arizmendi, G., Feria-Velasco, A. (1992) Golgi method without osmium tetroxide for the study of the central nervous system. *Biotechnic. Histochem.* 67:288-296
- 46 Groenewegen, H.J., Vermeulen-Van der Zee, E., Kortschot, A. and Witter, M.P. (1987) Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience.* 23:103-120.
- 47 Harris, K.M. (1999) Structure, development and plasticity of dendritic spines shape. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:12213-12215.
- 48 Harris, K.M., Jensen, F.E., Tsao, B. (1992) Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *J Neurosci* 12:2685-705.
- 49 Harris, K.M., Stevens, J.K. (1989) Dendritic spines of CA1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J Neurosci* 9:2982-97.
- 50 Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W., Wohltmann, C. (1991) Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat *Neuroscience* 41 (1):89-125.
- 51 Herrero, M.T., Barcia, C. and Navarro, J.M. (2002) Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child’s Nerv. Syst.* 18:386-404.
- 52 Jackson, D.M., Anden, N., Dahlstrom, A. (1975) A functional effect of dopamine in the nucleus accumbens and in some other dopamine rich parts of the rat brain. *Psychopharmacology.* 45:139-149

- 53 Kelley, A.E., Gauthier, A.M., Lang, C.G. (1989) Amphetamine microinjection into distinct striatal subregions cause dissociable effects on motor and ingestive behavior. *Behav. Brain Res.* 35:27-39.
- 54 Kelly, P.H., Seviour, P.W., Iversen, S.D. (1975) Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Res.* 94:507-522.
- 55 Kolb, B., Gorny, G., Söderpalm, A.H.V., Robinson, T. (2003) Environmental Complexity has Different Effects on the Structure of Neurons in the Prefrontal Cortex Versus the Parietal Cortex or Nucleus Accumbens. *Synapse* 48:149–153.
- 56 Kostrzewa, R.M., Jacobowitz, D.M. (1974) Pharmacological action of 6-hydroxydopamine. *Pharmacol Rev* 26:199–288.
- 57 Kuczenski, R., Segal, D.S., Cho, A.K., Melega, W. (1995) Hippocampus Norepinephrine, Caudate Dopamine and Serotonin, and Behavioral Responses to the Stereoisomers of Amphetamine and Methamphetamine. *The Journal of Neuroscience* 75(2): 1309-1317.
- 58 Legault, M., Rompre, P.P., Wise, R.A. (2000) Chemical Stimulation of the Ventral Hippocampus Elevates Nucleus Accumbens Dopamine by Activating Dopaminergic Neurons of the Ventral Tegmental Area. *The Journal of Neuroscience* 20(4):1635–1642.
- 59 Madras, B.K., Miller, G.M., Fischman, A.J. (2002) The dopamine transporter: relevance to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Behav. Brain Res.* 130:57-63.
- 60 McKittrick, Ch.R., Abercrombie, E.D. (2007) Catecholamine mapping within nucleus accumbens: differences in basal and amphetamine-stimulated efflux of norepinephrine and dopamine in shell and core. *Journal of Neurochemistry*, 100: 1247–1256.
- 61 Mediavilla-García, C. (2003) Neurobiología del trastorno de hiperactividad. *Rev. Neurol.* 36:555-565.
- 62 Mietus, B.A., Johanson, B., Ferry, L.M. (2003) The Neonatal Rat as a Developmental Animal Model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder: Effects of Frontal Lesions on Activity and Learning. *Dev Psychobiol* 42: 79–90.
- 63 Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G. (1998) Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.* 78
- 64 Mogenson, G.J., Jones, D.L., Yim, C.Y. (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 14:69–97.
- 65 Mulder, A.B., Manshanden, I., Vos, P.E., Wolterink, G., Van Ree, J.M., Lopez Da Silva, F.H.,(1996) . Modifications in glutamatergic transmission after dopamine depletion of the Nucleus accumbens. A combined in vivo/in vitro electrophysiological study in the rat. *Neuroscience* 72 (4): 1009-1021.
- 66 Nagatsu, T., Levitt, M., Uderfriend, S. (1964) Tyrosine hydroxylase: the initial step in norepinephrine biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 239:2910-2917.
- 67 Nauta, W.J., Smith, G.P, Faull RL, Domesick VB. (1978) Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience* 3: 385–401.

- 68 Nestler, E.J., Hyman, S.E., Malenka, R.C. (2001) *Molecular neuropharmacology: a foundation for critical neuroscience*. Mc.Graw-Hill. USA. pp 175-176, 375-376.
- 69 Nicola, S.M., Yun, I.A., Wakabayashi, K.T., Fields, H.L. (2004) Cue-evoked firing of nucleus accumbens neurons encodes motivational significance during a discriminative stimulus task. *J. Neurophysiol.* 91:1840-1865.
- 70 Nicola, S.M. (2007) The Nucleus Accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. Review. *Psychopharmacology.* 191:521–550
- 71 Ouagazzal, A.M. and Creese, I. (2000) Intra-accumbens infusion of D3 receptor agonists reduces spontaneous and dopamine-induced locomotion. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67:637-645.
- 72 Parkinson, J.A., Olmstead, M.C., Burns, L.H., Robbins, T.W. and Everitt, B.J. (1999) Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive Pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *J. Neurosci.* 19:2401-2411.
- 73 Paule, M.G., Rowland, A.S., Ferguson S.A., Chelonis, J.J., Tannock, R., Swanson, J.M. and Castellanos, F.J. (2000) Attention deficit/hyperactivity disorder: characteristics, interventions, and models. *Neurotoxicol. Teratol.* 22:631-651.
- 74 Paxinos, G., Watson, Ch. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates: Second Edition*. Academic Press Limited.
- 75 Pérez-Vega, M.I., Feria-Velasco, A., Gonzalez-Burgos, I. (2000) Prefrontocortical serotonin depletion results in plastic changes of prefrontocortical pyramidal neurons, underlying a greater efficiency of short-term memory. *Brain Res. Bull.* 53:291-300.
- 76 Pothuizen, H., Jongen-Re, A.L., Feldon, J. (2005) The effects of temporary inactivation of the core and the shell subregions of the nucleus accumbens on prepulse inhibition of the acoustic startle reflex and activity in rats. *Neuropsychopharmacology* 30, 683–696
- 77 Robinson, T.E., Kolb, B. (1997) Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. *J. Neurosci.* 17:8491-8497.
- 78 Robinson, T.E., Kolb, B. (1999) Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur. J. Neurosci.* 11:1598-1604.
- 79 Russell, V.A., Sagvolden, T. and Johansen, E.B. (2005) Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. Review. *Behav. Brain Funct.* 1:9-26.
- 80 Spencer, T.J., Biederman, J., Madras, B.K., Dougherty, D.D., Bonab, A.A., Livni, E., Meltzer, P.C., Martin, J., Rauch, S., Fischman, J. (2007) Further Evidence of Dopamine Transporter Dysregulation in ADHD: A Controlled PET Imaging Study Using Altoprane. *Biol. Psychiatry* 62:1059–1061.
- 81 Swanson, Ch.J., Kalivas, P.W. (2000) Regulation of Locomotor Activity by Metabotropic Glutamate Receptors in the Nucleus Accumbens and Ventral

- Tegmental Area. *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* 292 (1): 406-414.
- 82 Swanson, J.M., Flodman, P., Kennedy, J., Spence, M.A., Moyzis, R., Schuck, S., Murias, M., Moriarity, J., Barr, C., Smith, M., Posner, M. (2000) Dopamine genes and ADHD. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 24: 21–25.
 - 83 Tarazi, F.I., Campbell, A., Yeghiayan, S.K., Baldessarini, R. J. (1998) Differential anatomical localization of dopamine and ionotropic glutamate receptor subtypes in caudate-putamen. *Schizophrenia Research*, 29(1-2): 98
 - 84 Tarello-Acuña L, Olvera-Cortés E, González-Burgos I. (2000) Prenatal and postnatal exposure to ethanol induces changes in the shape of the dendritic spines from hippocampal CA1 pyramidal neurons of the rat. *Neurosci Lett* 286:13-6.
 - 85 Taverna, S., Van Dongen, Y.C., Groenewegen, H.J. and Pennartz, C.M.A. (2004) Direct physiological evidence for synaptic connectivity between medium-sized spiny neurons in rat nucleus accumbens in situ. *J. Neurophysiol.* 91:1111-1121.
 - 86 Vallone, D., Picetti, R. and Borrelli, E.(2000) Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24:125-132.
 - 87 Van Bockstaele, E.J., Pickel, V.M. (1995) GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in the rat brain. *Brain Research* 682: 215-221.
 - 88 Viggiano, D., Ruocco, L.A., Sadile, A.G. (2003) Dopamine phenotype and behaviour in animal models: in relation to attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27: 623–637.
 - 89 Volkow, N.D., Wang, G., Fowler, J.S., Logan, J., Gerasimov, M., Maynard, L., Ding, Y., Gatley, S.J., Gifford, A., Franceschi, D. (2001) Therapeutic Doses of Oral Methylphenidate Significantly Increase Extracellular Dopamine in the Human Brain. *The Journal of Neuroscience* 21 (121):1-5.
 - 90 Waldman, I.D. and Gizeh, I.R. (2006) The genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Clin. Psychol. Rev.* 26:396-432.
 - 91 Weinstock, M. (2001) Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. *Prog. Neurobiol.* 65:427-451.
 - 92 Zahm, D.S., Heimer, L. (1990) Two transpallidal pathways originating in the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 302: 437-46.
 - 93 Zhang, K., Tarazi, F.I. and Baldessarini, R.J. (2001) Role of dopamine D4 receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats. *Neuropsychopharmacology.* 25:624-632.
 - 94 Zhang, K., Tarazi, F.I., Davids, E., Baldessarini, R.J. (2002) Plasticity of Dopamine D4 Receptors in Rat Forebrain: Temporal Association with Motor Hyperactivity Following Neonatal 6-Hydroxydopamine Lesioning. *Neuropsychopharmacology* 26(5): 625-633.