



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas
Departamento de Ciencias Ambientales

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

**Efecto del metilfenidato sobre la conducta Impulsiva y su
relación con los niveles de catecolaminas en accumbens y
corteza prefrontal en ratas expuestas prenatalmente al
alcohol.**

Tesis

que para obtener el grado de

**DOCTOR EN CIENCIA DEL COMPORTAMIENTO
(ORIENTACIÓN NEUROCIENCIA)**

presenta

Patricia del Carmen Muñoz Villegas

Comité tutorial

Dr. Jorge Juárez González (Director)

Dra. Marisela Hernández González

Dr. Félix Héctor Martínez Sánchez

Guadalajara, Jalisco

Enero del 2014

“No es la más fuerte de las especies la que sobrevive, tampoco es la más inteligente. Es aquella que es más adaptable al cambio”.

(“It is not the strongest of the species that survives, nor the most intelligent that survives. It is the one that is the most adaptable to change”).

Charles Darwin.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, tal cual es, por ser mi principal motivo, mi orgullo, mi inspiración y mi más grande amor.

Al Dr. Jorge Juárez González por todo el apoyo, los consejos y las lecciones a través de estos 6 años. Por formar parte de mi formación como investigadora y su confianza en mi trabajo.

A la Dra. Marisela Hernández y al Dr. Héctor Martínez, por sus aportaciones a mi proyecto y su buena disposición pese a las carreras, los contratiempos y mi rebeldía.

A la Dra. Elena Escubedo y el Dr. Jordi Camarasa, por su apoyo, hospitalidad, entusiasmo y compromiso durante mi estancia en la Universidad de Barcelona. Gracias por contribuir en que esa experiencia fuera inigualable.

Al Dr. Alejandro Canales por su amistad, su apoyo, sus buenos consejos y su disposición en éste proyecto y en mi educación.

A la Dra. Eliana Barrios por su amistad, su confianza, por escuchar pacientemente mis crisis, enojos, alegrías, dudas y compartir uno que otro trago.

A los doctores del Instituto de Neurociencias, en especial a la Dra. Esmeralda Matute y al Dr. Daniel Zarabozo por su incalculable apoyo, sus consejos y por las excelentes asesorías de estadística.

A Lolo, Juan Pablo, Uriel y Yaira por ser mi segunda familia, por su amistad, apoyo, comprensión, por estar aquí a pesar de todo. Los amo.

A mi Paola, tú sabes por qué...

A Cárdenas, Jair, Juls y Jeans, ustedes también saben.

A Mariana, Mario, Paola y *Slavy*, por ser los mejores compañeros de laboratorio y por brindarme su amistad.

A Lisa, Hannah, Tom, Stella, Carina, Sophie, Ale, Igor, Elena, Ruben y Katrin, por haber hecho inolvidable Barcelona.

A todas mis ratas Wistar durante estos años, tanto a las nacionales como a las europeas, sin ustedes simplemente no se habría hecho este y tantos otros proyectos.

A la Universidad de Guadalajara, el Instituto de Neurociencias, CIATEJ y CONACyT por las facilidades para la realización de este proyecto.

ÍNDICE	Página
ABREVIATURAS	4
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
MARCO TEÓRICO	
1. Alcohol prenatal.	10
2. Dopamina	17
3. Noradrenalina	24
4. Metilfenidato.	30
5. Impulsividad.	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	56
OBJETIVOS	58
HIPÓTESIS	59
METODOLOGÍA	60
1. Tratamiento prenatal	
2. Tratamiento de crías	
3. Tratamiento Postnatal	
4. Impulsividad	
5. Crías adultas	
6. Análisis de catecolaminas	
VARIABLES	66
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	66
RESULTADOS	67
DISCUSIÓN	86
CONCLUSIONES	96
REFERENCIAS	97
ANEXOS	106

ABREVIATURAS

<i>5-Choice serial reaction time task</i>	5-CSRTT
6-Hidroxidopamina	6-OH
Ácido homovanílico,	HVA
Área Tegmental Ventral	ATV
Atomoxetina	Atx
Catecol-o-metiltransferasa	COMT
Centésima de segundo	cs
<i>Choice reaction time</i>	CRT
Conducta Motriz	CM
Corteza cingulada anterior	Cgl
Corteza infralímbica	IL
Corteza Orbitofrontal	COF
Corteza Prefrontal	CPF
Corteza Prefrontal medial	CPFm
<i>Delay-discounting Task</i>	DDT
Depresión a largo plazo	LTD
Dopamina	DA
Edad postnatal	EPN
Estriado dorsolateral	DL
Estriado ventral	SV
<i>High performance liquid chromatography</i>	HPLC
Impulsividad Cognitiva	IC
Impulsividad Motora	IM
Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina	SSRI
Intracerebro vascular	icv
Intra gástrico	ig
Intra peritoneal	ip
Locus Coeruleus	LC
Metilfenidato	MP
Monoamino oxidasa	MAO
Número consecutivo fijo	FCN
Noradrenalina	NA

Núcleo Accumbens	NAc
Peso Corporal	BW
Potenciación a largo plazo	LTP
Ratas con bloqueo del DAT	DAT-KO
Ratas espontáneamente hipertensas	SHR
Ratas Wistar-Kyoto derivadas hiperactivas	WKHA
Receptor a dopamina 1/2	D1R/2R
Reforzamiento diferencial a tasas bajas	RDL
Síndrome feto alcohólico	SFA
Sistema Nervioso Central	SNC
Solución Salina Fisiológica	SS
Subcutáneo	Sc
<i>Stop-signal task</i>	SST
Sustancia Nigra	SN
Tirosina Hidroxilasa	TH
Transportador de dopamina	DAT
Transportador de noradrenalina	NET
Trastorno de déficit de atención con/sin hiperactividad	TDAH
Volumen sobre volumen	v/v

RESUMEN

La exposición prenatal a alcohol produce afecciones en el sistema dopaminérgico mesolímbico cortical caracterizadas por una reducción de la actividad de las neuronas dopaminérgicas (DA) del área tegmental ventral (ATV), la cual puede ser normalizada tras la administración de metilfenidato (MP), un fármaco que actúa en éste sistema de neurotransmisión. En estudios previos hemos encontrado que este tratamiento con alcohol prenatal produce hiperactividad e impulsividad en ratas durante la pre-pubertad. Se ha descrito que existen, al menos, dos tipos de conducta impulsiva; una motora o reactiva y otra cognitiva o de elección y se ha propuesto que ellos están mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a distintos niveles. Con estas bases, el presente estudio analizó el efecto del MP sobre la impulsividad motora y cognitiva en la prepubertad y la prevalencia de esta conducta en la edad adulta de ratas que fueron tratadas prenatalmente con alcohol. Además de evaluar los niveles de DA y NA en NAc y CPFm al término del tratamiento en la preubertad y en la edad adulta, ya que estos neurotransmisores se han relacionado con la falla en el control inhibitorio además de que el metilfenidato tiene una acción directa sobre sus niveles en el cerebro. Utilizando ratas Wistar se les administró un tratamiento prenatal con alcohol (día 6 al 20 de gestación, 6g/Kg BW), se registraron conductualmente las crías macho de éstas ratas a la par que recibían un tratamiento con MP (3 mg/Kg ip), se sacrificó a la mitad de sujetos y los restantes permanecieron en condiciones *ad libitum* hasta la edad adulta donde se registró nuevamente la conducta. Finalmente se analizaron los niveles de DA y NA en CPFm y NAc. El tratamiento postnatal con MP no disminuyó los niveles de impulsividad motora y cognitiva respecto a sus controles durante la pre-pubertad, mientras que se observó un decremento significativo de ambos tipos de impulsividad en la edad adulta, así como un decremento en los niveles de inatención respecto a su grupo control. El tratamiento postnatal con MP no tuvo efecto sobre los niveles de DA y NA tanto en NAc como en CPFm de las ratas en edad prepúber, pero en la edad adulta, las ratas tratadas con MP tuvieron una tendencia a niveles de DA mayores para ambas estructuras. Así, el MP en la prepúberdad no afecta ni la IM ni la IC, posiblemente debido a que la evaluación de la conducta se hizo durante el pico máximo para el MP, sin embargo en la edad adulta tuvo un efecto muy significativo, incrementando los niveles de atención y haciendo más efectivos a los sujetos

ABSTRACT

Prenatal alcohol exposure produces affections in the mesolimbic dopaminergic system characterized by a reduction in the activity of dopaminergic neurons (DA) of the ventral tegmental area (VTA) that can be normalized after administration of methylphenidate (MP), a drug that acts on this neurotransmitter system. In previous studies we found that this treatment with prenatal alcohol produces hyperactivity and impulsivity in rats during pre-puberty. It has been reported that there are at least two types of impulsive behavior, a motor or reactive and a cognitive or choice and it has been proposed that they are mediated by different neural processes that affect behavior at different levels. With this basis, the present study examined the effect of MP on motor (MI) and cognitive impulsivity (CI) in prepubertal age and this prevalence in adulthood of rats that were treated prenatally with alcohol. In addition to assessing levels of DA and NA in NAcc and mPFC at the end of treatment in prepubertal and adulthood, as these neurotransmitters have been linked to the failure of inhibitory control that methylphenidate also has a direct action on levels in the brain. Wistar rats were given a prenatal alcohol treatment (day 6 to 20 of gestation, 6g/Kg BW), male offspring of these rats were behaviorally recorded at the same time receiving treatment with MP (3 mg / kg ip) and sacrificed, the half of the remaining subjects were kept in *ad libitum* conditions until adulthood and the behavior were recorded again. Finally the levels of DA and NE in mPFC and NAcc were analyzed. Postnatal treatment with MP did not decrease the levels of motor and cognitive impulsivity compared to their controls during pre-puberty, whereas a significant decrease of both types of impulsivity in adulthood, as well as a decrease in the levels of inattention was observed compared to control group. Postnatal treatment with MP had no effect on the levels of DA and NA in both NAcc and mPFC of rats in prepubertal age, but in adulthood, rats treated with MP had a tendency to more DA levels for both structures. Thus, the MP affects neither MI nor the CI, possibly because the behavioral assessment was done during the peak for the MP, but in adulthood had a significant effect, increasing levels and making more effective the subjects.

INTRODUCCIÓN

El sistema dopaminérgico mesolímbico cortical está implicado en aspectos de recompensa, además de estar relacionado con el reforzamiento de ciertas sustancias de abuso como los psicoestimulantes. La exposición prenatal a alcohol produce afecciones en este sistema de neurotransmisión que se caracterizan por una reducción de la actividad de las neuronas dopaminérgicas (DA) del área tegmental ventral (ATV), la cual puede ser normalizada tras la administración de psicoestimulantes como el metilfenidato (MP) un fármaco que actúa en éste sistema de neurotransmisión y del cual no se conoce con claridad su mecanismo de acción (Choong & Shen, 2004; Wang, Haj-Dahmane, & Shen, 2006; Xu & Shen, 2001; Heal, Smith & Findling, 2011). En estudios previos encontramos que este tratamiento con alcohol prenatal produce hiperactividad e impulsividad en ratas durante la prepubertad (Muñoz-Villegas & Juárez, publicación en preparación). Las afecciones en el sistema DA se han relacionado con algunos trastornos clínicos (como el *Trastorno de déficit de atención con hiperactividad* (TDAH)), en los cuales el uso de psicoestimulantes como el MP son el tratamiento de elección al incrementar tanto los niveles de DA extracelular disponibles como los de noradrenalina (NA). Se ha descrito que dosis bajas de MP incrementan los niveles de DA y NA en CPF, al ser ésta una estructura blanco de catecolaminas (Arnsten, 2006; Berridge et al, 2006). La DA es considerada uno de los principales factores en la etiología del TDAH, con base en: 1) La neurofarmacología de los tratamientos con psicoestimulantes; 2) las investigaciones de genética molecular; 3) los estudios en pacientes con neuroimagen; y, 4) las características conductuales y bioquímicas de los diferentes modelos animales (Van der Kooji & Glennon, 2007). La atomoxetina (Atx), un inhibidor selectivo de la recaptura de noradrenalina que actúa inhibiendo al transportador noradrenérgico presináptico (NET), se ha utilizado también, más recientemente, para tratar la sintomatología del TDAH.

Por otro lado, los efectos del alcohol prenatal en el terreno conductual no están bien descritos, si bien se sabe que una disfunción en el sistema dopaminérgico puede repercutir en algunas alteraciones conductuales como lo son la hiperactividad, ansiedad, impulsividad y la falta de atención, estas observaciones se han realizado en modelos animales en edad adulta y los tratamientos con alcohol prenatal que se han usado presentan una gran variabilidad tanto en la temporalidad como en la dosis.

El concepto de impulsividad es polifacético e implica varios aspectos, mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a distintos niveles (Basar et al., 2010; Dalley, Mar, Economidou & Robbins, 2008). En el DSM-V se define a la impulsividad como las acciones en el momento en respuesta a estímulos inmediatos, de forma momentánea y sin un plan o consideración de los resultados, con dificultad para establecer y seguir planes. La impulsividad es una faceta de un rasgo característico de desinhibición. También, se ha propuesto que existen, al menos, dos tipos de conducta impulsiva; una motora o reactiva y otra cognitiva o de elección (Winstanley et al., 2005; Dalley et al., 2008; Hand et al., 2009; Basar et al., 2010; Russell, 2011; Juárez et al., 2013). La primera se refiere a una alteración en el control inhibitorio que resulta en una respuesta anticipada o bien en la falla para inhibir una conducta ya iniciada (Dellu-Hagedorn, 2006; Eagle et al., 2011; Sesia et al., 2010), y la segunda, también es una alteración en el control inhibitorio y se caracteriza por una falla en la capacidad para discernir y elegir opciones que proporcionan una ventaja mayor en el mediano o largo plazo; por ejemplo, la incapacidad de soportar la demora en la presentación de un reforzador, esto es, elegir un reforzador pequeño pero inmediato en su presentación respecto a uno mayor pero con demora (Cardinal & Howes, 2005; Dalley et al., 2008; Robinson et al., 2009; Winstanley et al., 2005).

Por otro lado, existen ciertas discrepancias en cuanto a la evolución de trastornos conductuales y su prevalencia en la edad adulta. Si bien se sabe que en patologías como el TDAH la sintomatología persiste en la adultez, existen pocos estudios que evalúen las diferencias conductuales observadas en edad infantil y su persistencia en la edad adulta, y este número se reduce aún más si añadimos el efecto de tratamientos farmacológicos a temprana edad. Con esta base, el presente estudio analiza el efecto del MP sobre la impulsividad motora y cognitiva en la prepubertad y la prevalencia de esta conducta en la edad adulta de ratas que fueron tratadas prenatalmente con alcohol. Además se evaluaron los niveles de DA y NA en NAc y CPFm al término del tratamiento en la prepubertad y en la edad adulta, ya que estos neurotransmisores se han relacionado con la falla en el control inhibitorio además de que el metilfenidato tiene una acción directa sobre sus niveles en el cerebro.

1. Alcohol Prenatal

Se ha descrito que la exposición a alcohol durante la gestación puede influir en la proliferación y diferenciación celular del sistema nervioso central (SNC) ocasionando retardo en el crecimiento cerebral y afecciones en el sistema límbico así como en estructuras involucradas con funciones cognitivas (Aloe, 2006). El alcohol cruza fácilmente la placenta razón por la cual el feto alcanza concentraciones que son similares a las de la sangre en la madre (Carneiro et al., 2005). Algunas investigaciones han mostrado los efectos nocivos del consumo de alcohol sobre el aprendizaje, habilidades, atención y ejecuciones deficientes en tareas viso-espaciales en crías de ratas expuestas a alcohol durante la gestación (Riley & McGee, 2005). Por otro lado, se conoce que el consumo de alcohol durante la gestación está asociado con el gen del transportador dopaminérgico (DAT1) que se ha relacionado con el *Trastorno de déficit de atención con hiperactividad* (TDAH). Brookes y colaboradores (2006) analizaron una muestra de 2 poblaciones diferentes (Inglesa y Taiwanesa) de niños diagnosticados con TDAH cuyas madres hubieran consumido alcohol durante la gestación, los autores reportan que existe una relación entre el TDAH, el polimorfismo en el intrón 8 de este gen y un halotipo específico común (observado en ambas poblaciones), el cual mostró una interacción significativa con el consumo de alcohol prenatal; la interacción entre el genotipo DAT1 y el alcohol prenatal sugieren que el DAT1 modera de alguna forma los factores ambientales de riesgo y tiene implicaciones en la prevención del TDAH (Brookes et al., 2006). Por otro lado, el consumo de alcohol en dosis elevadas durante la gestación se ha asociado con diversos trastornos clínicos como el síndrome feto alcohólico (SFA) en el nacimiento, el cual se caracteriza por mostrar retardo en el crecimiento, anormalidades morfológicas y disfunciones en algunas funciones ejecutivas. Los problemas en este último se observan en la reducción de las actividades básicas de adaptación, incluyendo problemas en el aprendizaje y memoria, entre otros (Tattoli et al., 2001, Ryley & McGee, 2005). Además, se sabe que la ingesta de alcohol durante la gestación afecta de diferente manera a diversas estructuras cerebrales, el grado de afectación de cada área depende en gran medida del período en que se realice el consumo y de la dosis; asimismo, la ingesta de alcohol no sólo afecta el desarrollo del cerebro si no también la funcionalidad neuronal, lo cual indica que se alteran los sistemas de neurotransmisión (Ponnappa & Rubin, 2000). De igual manera, diversos

estudios indican que la exposición a alcohol prenatal puede ocasionar cambios importantes en el sistema dopaminérgico mesolímbico cortical (Shen, Hannigan, & Kapatos, 1999; Xu & Shen, 2001; Choong & Shen, 2004), el cual como es sabido es el sistema de neurotransmisión que se ha implicado en aspectos de reforzamiento a diversas sustancias de abuso, así como en la conducta motivada a objetivos, en procesos de aprendizaje y en diversas funciones cognitivas. Experimentalmente se ha observado que ratas expuestas a alcohol durante la gestación muestran problemas atencionales similares a los observados en niños con TDAH (Hausknecht, Acheson, Kieres, Shen R, Richards & Sabol, 2005, Russell, 2011), y en trabajos previos de nuestro laboratorio hemos visto que produce impulsividad e hiperactividad (Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar, Juárez, Muñoz-Villegas, Guerrero-Álvarez & Flores-Ocampo, 2013).

La exposición prenatal a altas dosis de alcohol (6 g/Kg BW del día 7 al 20 de gestación) produce hiperactividad en las crías, también se ha demostrado que la plasticidad sináptica en las aferencias corticales al estriado dorsolateral (DL) están involucradas en la patogénesis de la hiperactividad. Experimentalmente se ha visto que la estimulación de alta frecuencia (HFS) induce una débil potenciación a largo plazo (LTP) en ratas tratadas prenatalmente con alcohol respecto a sus controles al día 15 EPN. El mismo protocolo de HFS indujo depresión a largo plazo (LTD) en el grupo control pero la LTP permaneció en las ratas alcohol a los días 30 y 40 EPN. Por otra parte, el aumento basal de la transmisión sináptica fue acompañada por la disminución de los pares facilitadores de pulso (PPF) en las ratas alcohol el día 30 EPN, mientras que la perfusión con el antagonista D1R, SCH23390 restauró la transmisión sináptica y bloqueo la inducción anormal de LTP en las ratas alcohol el día 30 EPN. La perfusión con el agonista a D2R quinpirol revirtió la inducción de la LTP por el etanol en el receptor D1 y en el receptor metabotrópico glutamatergico dependiente de LTP. Estos datos aportan evidencia funcional de que la exposición a alcohol prenatal produce anomalías en la plasticidad sináptica vía estriado DL afectando el equilibrio entre los receptores D1 y D2 (Zhou, Wang & Zhu, 2012).

Desórdenes cognitivos y conductuales, como la impulsividad se asocian con la exposición crónica a alcohol durante la gestación en humanos, Olmstead y colaboradores (2009) evaluaron los efectos del tratamiento prenatal con alcohol (4g/Kg BW) durante toda la gestación (en cobayos), sobre los niveles de impulsividad utilizando un paradigma *Go/No-Go* (descrito más adelante). Los autores reportan que el alcohol prenatal incrementó las respuestas de tipo *No-Go* (impulsivas) respecto a las *Go*, lo cual indica un déficit en el control inhibitorio el cual asocian

con un daño en la corteza prefrontal (CPF) producida por el tratamiento prenatal con alcohol (Olmstead, Martin, Brien & Reynolds, 2009). Mientras que en un estudio realizado recientemente por Kim y colaboradores (2012), investigaron los efectos conductuales de la exposición prenatal al etanol en ratones y ratas (del día 6 al 15 de gestación, período en el que se lleva a cabo el cierre del tubo neural y se da la diferenciación neural) centrándose en la hiperactividad (campo abierto, 20 minutos), inatención (laberinto en Y) y la impulsividad (*The Electro-Foot Shock Aversive Water Drinking Test*). También observaron los cambios en el DAT (expresado en las neuronas DA de la sustancia nigra (SN), ATV, como en las proyecciones al estriado, NAc, CPF e hipotálamo) y en la expresión de MeCP2, el cual es un indicador neurobiológico y epigenético determinante en el SFA y en las conductas hiperactivas, inatentas y de la conducta impulsiva. Las crías de las ratas y ratones expuestos al alcohol prenatal presentaron hiperactividad, inatención e impulsividad, además de un incremento en los niveles de DAT y en el NET (relacionado con cambios epigenéticos probablemente por el estrés prenatal producido por muchos tóxicos incluyendo el alcohol) comparados con sus controles tanto en CPF como en estriado. La exposición a alcohol prenatal también decremento significativamente la expresión de MeCP2 en ambas estructuras.

Estos resultados sugieren que la exposición prenatal al alcohol induce hiperactividad, inatención y conductas impulsivas en roedores que podrían relacionarse con cambios epigenéticos y también a una disfunción del sistema de transportadores catecolaminérgicos (Kim et al., 2012). Por otro lado, estudios farmacológicos han demostrado que el sistema dopaminérgico mesolímbico cortical es crítico para reforzar los efectos del alcohol (Appel, Wise, McDaid, Koyama, McElvain & Brodie, 2006; Koyama, Brodie & Appel, 2007; Rathbun & Druse 1985), y se ha reportado ampliamente en la literatura que la administración prenatal de alcohol puede alterar los sistemas neuroquímicos que están involucrados en la motivación y en aspectos de reforzamiento del consumo del mismo. También se ha descrito que ésta exposición puede alterar patrones de respuesta relacionados a la percepción de características químicas (olor y sabor) en crías expuestas prenatalmente al alcohol, incrementando el consumo del mismo en la pubertad y la edad adulta (Chotro & Arias, 2006). Por su parte, Barbier y colaboradores (2008) estudiaron el efecto del tratamiento con alcohol con un paradigma de administración desde 4 semanas antes del inicio de la gestación, durante la gestación y en etapa postnatal hasta el destete (día 21 EPN) evaluando sus efectos en las crías sobre los aspectos recompensantes de la cocaína (edad adulta)

y las alteraciones moleculares producidas por el mismo. Los autores reportan que la administración de alcohol en etapas tempranas de la vida puede tener implicaciones en la plasticidad y funcionamiento cerebral así como en la respuesta a drogas de abuso (cocaína) en etapas posteriores de la vida. Las crías de las ratas expuestas al alcohol presentaron una preferencia al lugar donde se les administraba cocaína, relacionando este incremento en el consumo con el decremento significativo en la densidad de los transportadores DA estriales y no con una preferencia *per se* a la droga (Barbier, Pierrefiche, Vaudry, Vaudry, Daoust, & Naassila, 2008). Por otro lado, se ha descrito que la administración prenatal de alcohol disminuye la actividad espontánea tipo “marca paso” y otras propiedades de la membrana de las neuronas DA en el área tegmental ventral (ATV) en animales en desarrollo y en adultos. Este efecto contribuye en parte a la disfunción del sistema DA mesolímbico cortical (Wang et al., 2006).

Los efectos del alcohol prenatal en el ámbito conductual no están bien descritos, si bien se sabe que una disfunción en este sistema puede presentarse con ciertas alteraciones conductuales como lo son: impulsividad, hiperactividad, ansiedad, falta de atención entre otros, estos problemas conductuales se han observado hasta el momento en modelos animales en edad adulta y en los cuales existe gran variabilidad entre la temporalidad del tratamiento y la dosis a la cual se administra el alcohol. En un trabajo realizado por Hausknecht y colaboradores (2005), se evaluó la atención de ratas que fueron expuestas prenatalmente a alcohol (6g/Kg peso del día 8 a 20 de gestación) en edad adulta, mediante una prueba de *choice reaction time* (CRT), reportando que estos animales presentaron una mayor variabilidad en la distribución de los tiempos de reacción, asociada a que las ratas respondían más rápido que sus controles isocalóricos quizás como resultado de lapsos de atención más frecuentes. Además, de manera similar a lo que se observa en niños con TDAH, las ratas expuestas prenatalmente al etanol presentaron un número mayor de respuestas falsas, asociando esto último a una inhibición conductual deficiente, además estos autores señalan que las alteraciones conductuales producto de la administración prenatal de alcohol puede ser mediada por substratos neuronales en común, siendo el sistema DA de un interés particular (Hausknecht et al., 2005). En estudios previos demostramos que el tratamiento con alcohol en etapa prenatal (día 8 al 20 de gestación) ocasiona alteraciones conductuales en las crías como hiperactividad e impulsividad (Figuras 1 y 2) que se pueden relacionar con una deficiencia del sistema DA mesolímbico cortical. A su vez, las neuronas DA que proyectan de ATV a regiones límbicas y corticales tienen un papel importante en la modulación psicológica y

en funciones cognitivas. Datos de nuestro laboratorio han mostrado que el tratamiento prenatal con alcohol ocasiona afectaciones en los niveles de DA en núcleo accumbens (NAc) y corteza prefrontal medial (CPFm), incrementando los niveles de neurotransmisor significativamente en NAc respecto a su control.

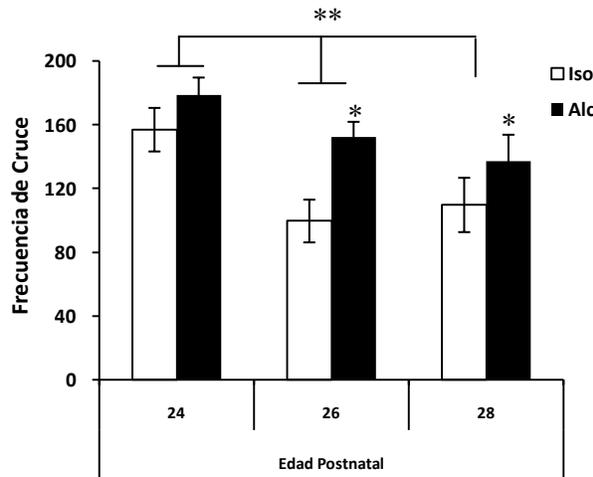


Figura 1. Frecuencia de cruces por cuadrantes en los 3 días de registro en la prueba de campo abierto para las ratas tratadas prenatalmente con sacarosa (Iso) y con alcohol (Alc). La prueba fue de 5 minutos. Diferencias significativas entre grupos Alc > Iso, $p < 0.05$ (*) y entre días 24 > 26 y 28, $p = 0.0001$ (**), $n = 20$. Las barras indican la media \pm E.E.M.

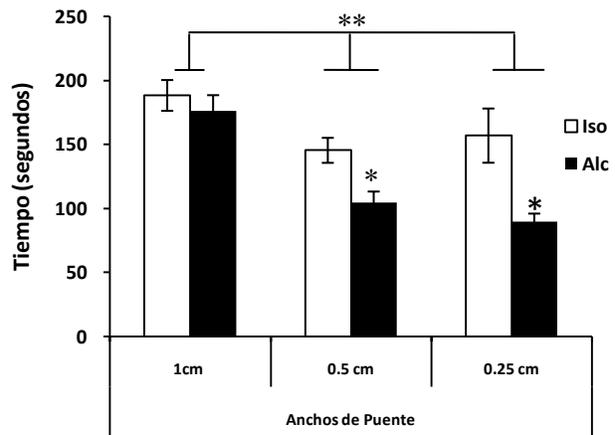


Figura 2. Tiempo total de traslado en puentes novedosos en la prueba de impulsividad para las ratas tratadas prenatalmente con sacarosa (Iso) y con alcohol (Alc). Diferencias significativas entre grupos Iso > Alc, $p < 0.005$ (*) y en el ancho de puente, 1 cm > 0.5 y 0.25 cm, $p < 0.001$ (**), $n = 20$. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Además del estudio realizado en nuestro laboratorio, existen muy pocos estudios que analicen la capacidad de respuesta del sistema DA o NA tras el tratamiento con alcohol prenatal. Si bien, algunos estudios han descrito que en sujetos portadores de una disfunción DA el tratamiento con anfetaminas o metilfenidato (MP) produce una normalización en la actividad de las neuronas DA de ATV (Choong & Shen, 2004; Shen, Choong & Thompson, 2006; Wang et al., 2006), no hay estudios que analicen la capacidad de respuesta DA de este sistema ante la administración de algún psicoestimulante, y que evalúen esta respuesta en sujetos infantiles versus adultos. En lo referente a las alteraciones conductuales producidas por el tratamiento prenatal con alcohol, se han descrito diversas estrategias de tratamiento en la literatura; sin embargo, pocas se relacionan con alteraciones en el sistema DA y de los trabajos disponibles la mayoría evalúa la conducta únicamente en edad adulta. Con este propósito en el laboratorio de Farmacología y Conducta se desarrolló un paradigma en ratas que permite evaluar tanto el control inhibitorio motor o reactivo como el cognitivo a en un período corto de entrenamiento. Esta conducta operante consiste en que las ratas crucen por un puente de transición tras la presentación de una señal y así obtengan un reforzador. De esta manera ésta

prueba se considera una *wait-to-go-signal task* (impulsividad motora), o que crucen el puente tras la elección entre dos alternativas de reforzador en una prueba *Delay-discounting task* (Juárez et al., 2013). Para probar este protocolo se emplearon animales con una disfunción en el sistema DA producida por el tratamiento prenatal con alcohol (que ya se ha observado produce inatención e impulsividad en ratas, Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar). En la Tabla 1 se muestran algunos estudios en los que se ha administrado alcohol durante la gestación.

Tabla 1. Estudios en roedores en los que se utilizó un tratamiento prenatal con alcohol. (*) El tratamiento se continuó en etapa postnatal.

<i>Autor</i>	<i>Dosis y Tratamiento</i>	<i>Resultados</i>
Arias et al. (2008)	0.5 a 2.5 g/Kg BW, ig, día 17 a 20 de gestación.	Hiperactividad, tolerancia al alcohol postnatal.
Cagiano et al. (2002)	3% oral, 15 de gestación al 7 EPN.	Incremento en los niveles de ansiedad, aumento en los niveles de DA basal en NAc pero no en CPF (*).
Carneiro et al. (2005)	0.5 y 4 g/Kg BW, oral, 30 días antes y durante toda la gestación.	Incremento en los niveles de ansiedad, disminución de la actividad locomotora pero con incremento de conductas de <i>rearing</i> y aseo, mayor inmovilidad en nado forzado y decremento de los receptores D1 y D2 en estriado e hipocampo.
Choong & Shen. (2004)	6 g/Kg BW, ig, día 8 a 20 de gestación.	Alteraciones del sistema dopaminérgico mesolímbico cortical.
Hausknecht et al. (2005)	6 g/Kg BW, ig, día 8 a 20 de gestación.	Variabilidad en los tiempos de reacción (CRT), inatención, incremento en las respuestas falsas.
Juárez et al. (2013)	6 g/Kg BW, ig, día 8 a 20 de gestación.	Inatención e Impulsividad, sin incremento en los niveles de ansiedad.
Olmstead et al. (2009)	4 g/Kg BW, oral, toda la gestación.	Impulsividad (mayor número de respuestas <i>No-Go</i>).
Rathbun & Druse. (1985)	6% v/v (dieta líquida), día 1 a 20 gestación.	Incremento de DA en hipotálamo, decremento de los niveles de DA en CPF.
Shen et al. (1999)	6 g/Kg BW ig, día 8 a 20 de gestación.	Disminución de la sensibilidad de los receptores pre y postsinápticos de DA.
Sigh & Snyder (1982)	20% v/v (dieta líquida), día 1 a 20 gestación.	Bajo peso en las crías al nacer, disminución en la ingesta de alimento en la etapa postnatal, alteraciones conductuales (no especificadas).
Tattoli et al. (2001)	3% oral, 15 de gestación al 7 EPN.	Hiperactividad, problemas de atención, y memoria (*).
Xu & Shen. (2001)	6 g/Kg BW, ig, día 8 a 20 de gestación.	Reducción de la actividad de neuronas DA en ATV.

BW peso corporal, *DA* dopamina, *NAc* núcleo accumbens, *CPF* corteza prefrontal, *CRT* choice reaction time, *ATV* área tegmental ventral.

Estudios anteriores de nuestro laboratorio demostraron que el tratamiento prenatal con alcohol produce alteraciones conductuales respecto a sus controles isocalóricos (Juárez et al., 2013), razón por la cual en este trabajo sólo se utilizaron sujetos con un tratamiento prenatal de alcohol y no sujetos isocalóricos pues ahora, es de nuestro interés analizar cómo los cambios conductuales son afectados con un tratamiento farmacológico que se ha observado actúa incrementando tanto los niveles de DA como los de noradrenalina (NA), es decir, con MP, el cual es ampliamente empleado en la clínica para tratar la sintomatología de trastornos conductuales en los que los sistemas DA y NA están íntimamente relacionados. Además, hoy en día no se conoce con certeza si en la edad adulta se revierten o atenúan estas alteraciones conductuales y más aun, no está bien esclarecido lo que sucede con sujetos que recibieron tratamiento farmacológico únicamente en la infancia al llegar a la adultez.

2. Dopamina

Resultados de estudios en humanos y animales, sugieren que la disfunción del sistema dopaminérgico mesolímbico cortical, originado en el ATV está presente en diversos trastornos conductuales como lo es TDAH y el SFA. Este sistema esta principalmente implicado en aspectos de reforzamiento para diversas sustancias adictivas. La DA es considerada uno de los principales factores en la etiología del TDAH, esto con base en: 1) La neurofarmacología de los tratamientos con psicoestimulantes; 2) las investigaciones de genética molecular; 3) los estudios en pacientes con neuroimagen; y, 4) las características conductuales y bioquímicas de los diferentes modelos animales (Van der Kooji & Glennon, 2007).

La DA y la NA son catecolaminas que se caracterizan por presentar en su estructura química un grupo catecol (anillo bencénico con dos grupos hidroxilo). Tanto la DA como la NA se originan de la misma molécula precursora la tirosina. La síntesis de las catecolaminas se muestra en la Figura 3.

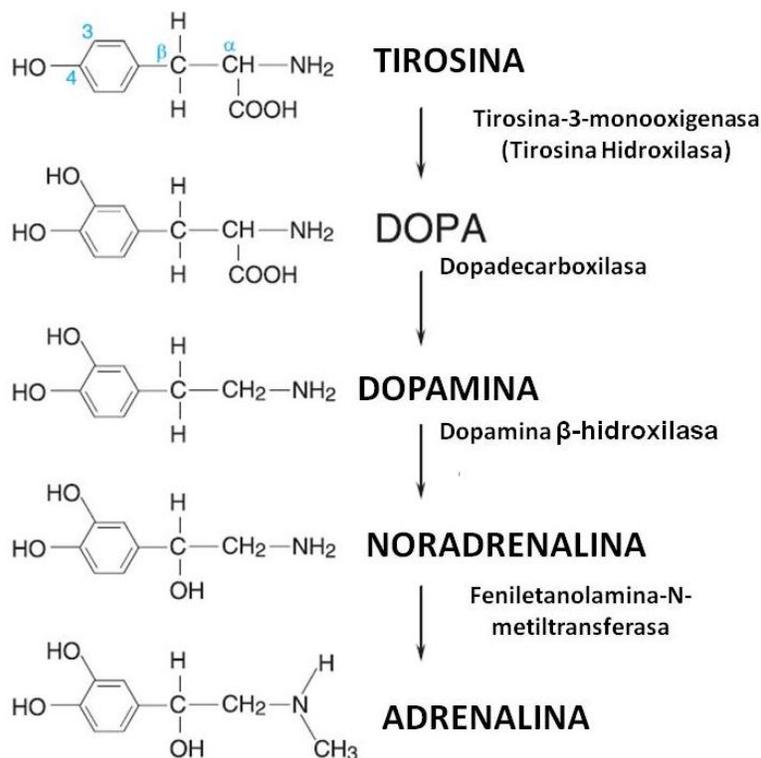


Figura 3. Síntesis de catecolaminas (con base en Webster, 2001).

Hay cuatro vías en la conducción dopaminérgica: la mesolímbica (conexiones de ATV con estructuras límbicas como en núcleo accumbens, tubérculo olfatorio y la amígdala), la mesocortical (ATV a CPF), la nigroestriatal (sustancia nigra compacta a estriado) y, la hipotálamo tubero-infundibular (núcleo arqueado hipotalámico, núcleo paraventricular y glándula pituitaria). En este estudio al referirnos a la vía mesolímbica hablaremos únicamente la conexión entre el ATV y NAc, esta vía está involucrada principalmente en conductas motivadas a objetivos y en procesos de aprendizaje, la mesocortical en funciones cognitivas y la nigroestriatal en procesos de control motor (Engert & Pruessner, 2008). Las vías mesolímbica y mesocortical se ha reportado que están involucradas en trastornos con afecciones conductuales como el TDAH; ya que la vía mesolímbica se ha asociado a conductas de tipo impulsivas y ante el reforzamiento de ciertas sustancias de abuso, y la vía mesocortical a la regulación de procesos de información, atención selectiva, memoria de trabajo, lenguaje y planeación (Van der Kooji & Glennon, 2007). En la Tabla 2 Se resumen las funciones asociadas a las vías dopaminérgicas así como los receptores involucrados en las mismas.

El NAc forma parte del estriado ventral, el cual se caracteriza por tener conexión con estructuras límbicas como la amígdala, hipocampo, tálamo medial y con la CPF (Basar et al., 2010). La CPF y el NAc son terminales DA funcionalmente significativas a largo y corto plazo en el uso de sustancias de abuso como la cocaína, en ambas estructuras se observa un incremento en la liberación de neurotransmisor tras la administración de la droga. Por otro lado, se ha descrito que la CPF se activa durante procesos de atención y memoria de trabajo, tanto la CPF como el NAc se involucran en procesos de aprendizaje asociativo (respuesta ante señales) ante el consumo de cocaína y en pruebas con incentivos motivacionales.

En el caso del NAc la porción *shell* de éste se relaciona con aspectos farmacológicos de drogas como la cocaína y con los efectos condicionados ante sustancias como la morfina y la nicotina (Ikegami, D'Souza & Duvauchelle, 2007). El concepto impulsividad es multifacético e implica varios aspectos, mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a distintos niveles. El NAc es el componente clave que regula los procesos neurales de la impulsividad. Basar y colaboradores (2010) realizaron una revisión donde discuten los resultados de estudios con lesiones en animales y de imagen funcional en humanos, centrándose en el papel del NAc en la impulsividad.

Tabla 2. Funciones de las vías DA y receptores asociados

Función	Vías	Efectos de agonistas DA	Efecto de antagonistas DA	Receptor
Control Motor	Tracto nigroestriatal de la SN (A9).	Animales: Estereotipias, rotación cuando uno de los tractos es lesionado. Humanos: Induce disquinesias, efectivos en parkinsonismos.	Animales: Catalepsia. Humanos: Reduce disquinesias, induce parkinsonismo.	D2, poco D1
Iniciación de una conducta, conductas de tipo Impulsivo, conductas motivadas & Funciones ejecutivas.	Vía mesolímbica, ATV a NAc (A10). Vía Mesocortical, ATV a CPF (A10).	Animales: Incremento de la actividad locomotora y auto-estimulación intracraneal. Humanos: Alucinaciones, psicosis (reforzamiento, recompensa).	Animales: Decrementa la actividad y la auto-estimulación. Humanos: Reduce síntomas positivos de la esquizofrenia.	D2
Control (inhibición) de la liberación de prolactina	Vía tubero-infundibular de A12 en el núcleo arcuato de la eminencia media a la pituitaria.	Humanos: Hipoprolactinemia.	Humanos: Hiperprolactinemia, galactorrea, amenorrea.	D2
Vómito.	Distintas vías, receptores DA en vías de quimiorreceptores	Vómito.	Anti-emético (quita las náuseas).	D2

Modificada de Webster, 2001; con base en Engert & Pruessner, 2008; Van der Kooji & Glennon, 2007.

De acuerdo a la evidencia encontrada, el NAc y sus subregiones (*Core* y *Shell*) juegan un papel importante en el control inhibitorio, que varía de acuerdo a la faceta de la impulsividad. (Basar et al., 2010). En un estudio realizado por Chong y colaboradores (2012) utilizaron microelectrodos implantados en el NAc para analizar los efectos crónicos y agudos del MP (2.5 mg/Kg ip) sobre la tasa de disparo de las unidades neuronales en ratas que se encontraban libres. El MP incrementó la tasa de disparo y decrementó un 54% las unidades de NAc en comparación con su línea base. Tras 6 administraciones consecutivas de MP se alteró un 85% la tasa de disparo basal. Los autores hipotetizan que estas alteraciones en las tasas de disparo pueden ser

mecanismos de inducción celular en los receptores D1 Y D2 a DA, así como adaptaciones desregulación/homeostasis causadas por la administración crónica y aguda de MP (Chong, Claussen & Dafny, 2012).

Como se ha mencionado, la exposición prenatal con etanol produce alteraciones en el sistema DA caracterizadas por la disminución en la actividad de las neuronas DA del ATV, la cual puede normalizarse tras la administración de psicoestimulantes como las anfetaminas o el MP ((Choong & Shen, 2004; Wang et al., 2006; Xu & Shen, 2001). La sensibilización conductual es una consecuencia de cambios neuroadaptativos por la inducción a drogas psicoestimulantes, es un proceso que involucra la neurotransmisión DA y glutamatérgica (GLU) y las proyecciones entre el ATV, NAc, CPF y la amígdala. Existen algunas discrepancias en cuanto al papel de la CPF en la inducción a la sensibilización por anfetaminas o cocaína, se ha reportado que lesiones en la CPFm impiden la sensibilización a anfetaminas mientras que otros autores reportan que bajo ciertas circunstancias, la CPF ejerce un papel importante en la modulación de la sensibilización a los psicoestimulantes (Vanderschuren & Kalivas, 2000). Se sabe que las neuronas DA localizadas en el ATV proyectan al NAc, particularmente a la zona de *shell*, y que éstas son activadas tras la administración de drogas de abuso, estimulando el sistema de recompensa. Se ha descrito que las ratas aprenden más fácilmente a auto-administrarse anfetaminas cuando éstas se administran en la parte medial del *shell* del NAc, que en la porción lateral del *shell* (Ikemoto, 2007).

Algunos estudios sugieren que las neuronas DA mesolímbico corticales pueden estar involucradas en la modulación de daños cognitivos relacionados al alcohol. A su vez, estas proyecciones tienen un papel importante en la modulación psicológica y en las funciones cognitivas (Dazzi, Seu, cherchil, Barbieri & Matzeu, 2007).

Kuczenski & Segal (2002) reportaron que la administración de MP oral durante la fase de oscuridad-actividad del ciclo circadiano afecta la actividad locomotora de las ratas produciendo sensibilización e incrementa los niveles extracelulares de NA en hipocampo sin afectar los niveles de DA en NAc. Sin embargo, dosis orales bajas de MP no producen un efecto significativo en la DA en NAc ni en otras proyecciones como en la CPF.

La actividad eléctrica controla la síntesis y liberación de dopamina, la exposición a alcohol prenatal reduce esta actividad lo que puede contribuir a la disminución de la cantidad de DA y sus metabolitos disponibles tanto extracelular como intracelularmente, esta reducción en la

actividad espontánea de las neuronas DA del ATV tras la exposición prenatal a alcohol puede ser normalizada por el tratamiento agudo y sistémico con metilfenidato y anfetaminas (Shen et al., 1999; Xu & Shen, 2001).

Es sabido que la ingestión de drogas como la nicotina u opiáceos resultan altamente recompensantes cuando son administrados en la porción posterior al ATV. En la literatura se ha reportado que: a) el ATV tiene proyecciones al NAc (*core* y *shell*); b) la porción estriado del tubérculo olfatorio es una extensión ventral *shell* del NAc; y, c) un modelo doble de proyecciones DA de la parte ventral del cerebro al estriado ventral, son importantes para entender las funciones del sistema de recompensa (Ikemoto, 2007).

Además, se sabe que la CPFm juega un papel importante en la regulación de diversas funciones cognitivas y sus conexiones con el estriado están implicadas en la conducta impulsiva, la atención, la toma de decisiones, entre otras (Arnsten, 2006; Devilbiss & Berridge, 2008). Así mismo, la DA presente en el NAc y en el estriado dorsal (DL) se relacionan con diferentes aspectos conductuales. El NAc se asocia a procesos de aprendizaje, impulsividad de tipo motor o reactivo y de reforzamiento de sustancias de abuso y el DL con el aprendizaje asociativo y con los aspectos de tipo motor inducidos por sustancias de abuso como lo es el fenómeno de búsqueda tras su consumo (*seeking*) (D'Souza & Duvauchelle, 2006). Las lesiones 5-HT en el prosencéfalo disminuyen la capacidad de la *d*-anfetamina de disminuir la impulsividad en los paradigmas de *Delay-discounting* (DDT), así, la interacción entre los sistemas 5-HT y DA está relacionada con la impulsividad. Las lesiones en el NAc incrementan la impulsividad, pero la medida en que la DA del NAc está implicada en la regulación de la impulsividad cognitiva no se conoce con claridad. Winstanley y colaboradores (2005) realizaron infusiones neurotóxicas intra-NAc con 6-hidroxidopamina (6-OH) y evaluando la impulsividad cognitiva, ante el tratamiento con *d*-anfetamina, 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}) y WAY 100635 (antagonista 5-HT_{1A}). Las ratas lesionadas 6-OH-NAc tuvieron niveles locales menores de DA y NA (70-75%), sin presentar efecto en el DDT, pero el tratamiento potenció transitoriamente la disminución inducida por la *d*-anfetamina en la impulsividad cognitiva. El 8-OH-DPAT incrementó los niveles de impulsividad en las ratas control (*sham*), efecto que fue bloqueado por el WAY 100635. Sin embargo, el 8-OH-DPAT no mostró efecto alguno sobre los niveles de impulsividad en las ratas lesionadas 6-OH-NAc. El 8-OH-DPAT no modificó por sí mismo la ejecución de las pruebas, el bloqueo del efecto de la *d*-anfetamina en las ratas control, mientras que el WAY 100635

incrementó el efecto de la *d*-anfetamina en todos los sujetos. En un experimento adicional, los autores administraron intracerebro ventricularmente la toxina 5,7-dihidroxitriptamina (selectiva a 5-HT) que disminuyó los niveles 5-HT en el prosencéfalo entre el 85 y 90%, esto no bloqueó la habilidad del 8-OH-DPAT de incrementar la impulsividad cognitiva. Estos resultados sugieren que la interacción entre la DA y la 5-HT en el NAc es importante en el control impulsivo y en los mecanismos por los cuales la *d*-anfetamina disminuye los niveles de impulsividad cognitiva (Winstanley, Theobald, Dalley & Robbins, 2005).

La DA y el DRD1 están involucrados en la inhibición conductual y en los diferentes procesos de inhibición observados en el TDAH, esquizofrenia, TOC y la adicción a drogas. El *Stop-signal reaction task* (SSRT) se utiliza como una medida de rapidez de los procesos de inhibición, los psicoestimulantes mejoran la inhibición en modelos de TDAH donde se emplea el SSRT, asociado con un mejoramiento en la función dopaminérgica. Sin embargo, la naturaleza del control dopaminérgico sobre el SSRT no está clara. En un experimento realizado por Eagle y colaboradores (2011), analizaron las regiones específicas y los receptores involucrados en la modulación del SSRT en ratas (Lister-hooded) utilizando infusiones directas en el estriado dorsomedial (DMS_{Str}) y en el *Core* del NAc, del antagonista a DRD1, SCH23390 o de sulpirida, un antagonista a DRD2. El paradigma de SSRT se registró en una cámara operante con dos palancas retráctiles, probando las ratas inicialmente ante *stop-signal delays* (SSD) para generar funciones de inhibición y calcular así el SSRT. El *Stop-signal reaction task* (SSRT) fue evaluado en medida de la inhibición conductual (calculada a partir de los ensayos en los que hubo un retraso entre el comienzo del ensayo y la presentación de la señal de paro (*stop signal*): la medida del tiempo requerido para inhibir la respuesta). Los antagonistas a D1R y D2R tuvieron efectos contrastantes en el SSRT que fueron específicos para el DMS_{Str}. SCH23390 disminuyó los tiempos del SSRT con un efecto mínimo en las respuestas *Go*. A la inversa, la sulpirida incrementó el SSRT, aumentando también los tiempos de reacción de ensayos-*go* y disminuyendo el término de ensayos a la dosis más alta. Estos resultados sugieren que la función de los receptores a DA (D1R y D2R) junto con el DMS_{Str} pueden actuar modulando la inhibición conductual, en una forma que es independiente de la activación conductual y que, en este proceso no participa el *Core* del NAc como se había descrito anteriormente (Cardinal & Howes, 2005). Así, estos resultados son un paso importante hacia la comprensión de cómo el cerebro controla la expresión de *acciones no deseadas* y puede contribuir a mejorar las estrategias de tratamiento

para los trastornos como el TDAH y la adicción a las drogas, en el que la inhibición se ve comprometida (Eagle et al., 2011).

Relativamente se sabe poco sobre el “costo de una acción”, cómo el esfuerzo realizado contribuye a la decisión de un acto, es decir; el esfuerzo basado en la toma de decisiones lleva a la elección de una acción con base en la integración de las acciones y el valor de las metas. Kurnianwan y colaboradores (2011) hicieron una revisión profunda sobre las conductas y las bases neurobiológicas sobre la representación del esfuerzo como el costo de una acción y cómo esto influye en la toma de decisiones. En todos los organismos el esfuerzo realizado para obtener una recompensa es muy sensible a la cantidad de esfuerzo que se requiere, de tal manera que la preferencia neta para una acción disminuye a medida que aumenta el precio del esfuerzo. La DA está involucrada en los mecanismos para superar los costos de una respuesta y en el incremento de la motivación hacia acciones recompensantes. Estructuras como los ganglios basales (núcleo caudado y putámen) y la corteza cingulada anterior contribuyen en la generación interna de la traducción de la expectativa de una recompensa ante una acción esforzada (Kurnianwan, Guiart-Masip & Dolan, 2011). Previamente en el laboratorio mostramos que el tratamiento prenatal con alcohol en una dosis de 6 g/Kg ocasiona afectaciones en los niveles de DA en NAc y CPFm, incrementando los niveles de neurotransmisor en ambas estructuras respecto a sus controles siendo significativo este incremento en el NAc (Figuras 4 y 5), además al administrar una dosis sub aguda de MP (5 mg/Kg BW ig), no observamos un efecto del psicoestimulante sobre los niveles de neurotransmisor en ambas estructuras (Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar).

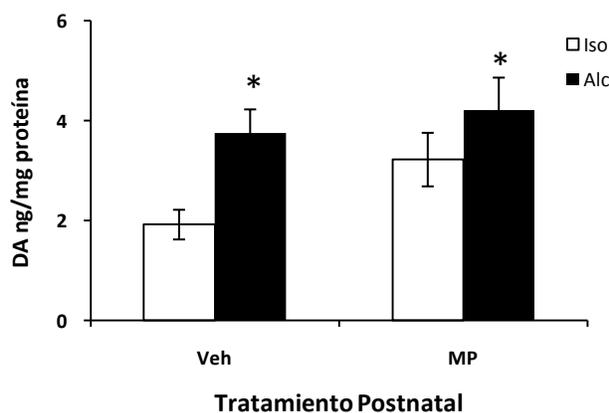


Figura 4. Concentración de DA en NAc para las ratas tratadas prenatalmente con sacarosa (Iso) y tratadas con alcohol (Alc). Con tratamiento postnatal de MP. Diferencias significativas entre grupos Alc > Iso, $p=0.005$ (*), $n=10$. Las barras indican la media \pm E.E.M.

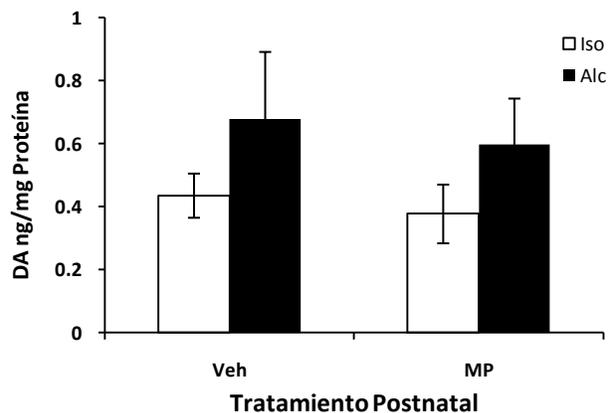


Figura 5. Concentración de DA en CPFm para las ratas tratadas prenatalmente con sacarosa (Iso) y tratadas con alcohol (Alc). Con tratamiento postnatal de MP, $n=10$. Las barras indican la media \pm E.E.M.

3. Noradrenalina

La noradrenalina (NA) es sintetizada a partir de la molécula DOPA cuando esta es convertida en DA por la enzima DA-descarboxilasa y posteriormente la enzima dopamina β -hidroxilasa agrega un grupo hidroxilo a la DA convirtiéndola en NA (ver Figura 3). La principal vía NA es el Locus Coeruleus (LC), las células del LC responden ante estímulos novedosos, condicionados y de carácter apetitivo, juegan un papel importante en la regulación de la atención, excitación, miedo, ansiedad y en la actividad locomotora. Las proyecciones NA ascendentes desde el LC a estructuras subcorticales y corticales se relacionan con el funcionamiento cognitivo y la excitación, el MP activa el flujo de DA y NA preferencialmente en CPF respecto a estructuras subcorticales como el NAc (Engert & Pruessner, 2008). La CPF recibe proyecciones tanto de ATV (DA) como de LC (NA) y se ha observado que la excitación del LC incrementa la liberación de DA en CPF pero este efecto no ocurre a través de la excitación directa de las neuronas DA. Esto debido en parte a la recaptura de DA por el transportador noradrenérgico (NET), como consecuencia las terminales de NA en CPF pueden regular los niveles de DA a través del NET además, la DA no modula la liberación de NA en CPF mientras que la NA puede modular la liberación de DA (Viggiano, Ruocco, Arcieri & Sadile, 2004). Las vías NA se muestran en la Figura 6.

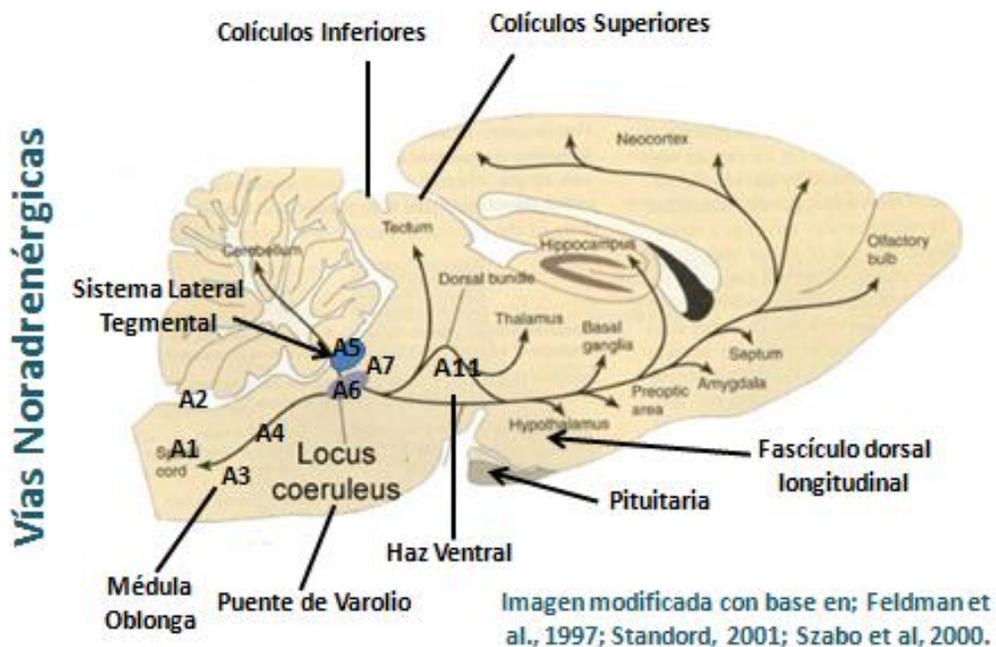


Figura 6. Vías Noradrenérgicas.

El incremento en la actividad basal de las células del LC puede disminuir la respuesta de la CPF, tratamientos farmacológicos que disminuyen la actividad del LC pueden mejorar la atención, excitación y los procesos cognitivos asociados a la CPF (Bymaster et al., 2002). Como ya se mencionó anteriormente las alteraciones del sistema DA se observan en trastornos conductuales como el TDAH, siendo el tratamiento farmacológico de elección para este desorden los psicoestimulantes los cuales entre otras acciones, aumentan la liberación de DA y NA en el estriado dorsal y ventral (Arnsten, 2009; Bymaster et al., 2002), las disfunciones en la CPF se encuentran reguladas por sistemas subcorticales incluyendo al NA y DA y, lesiones en la CPFm en ratas se ha visto que producen inatención e incremento de la actividad locomotora. Se conoce que los fármacos que regulan la transmisión NA también son efectivos para el tratamiento de TDAH (atomoxetina, metilfenidato, anfetaminas, etc.), esto podría suponer que este trastorno también incluye un desorden en el sistema NA. La atomoxetina (Atx) es un inhibidor selectivo de la recaptura de NA, usado en clínica actualmente para el tratamiento de la sintomatología del TDAH en niños y adultos, este fármaco no tiene afinidad por el DAT y tiene escasa o nula afinidad por el transportador de 5-HT (Bymaster et al., 2002; Robinson et al., 2009). En comparación con el MP la Atx no incrementa los niveles de DA en estriado dorsal o NAc, esto sugiere que no influye en los aspectos motores relacionados al consumo de psicoestimulantes, como el incremento en la actividad locomotora, así la Atx incrementa la concentración de NA en CPF sin alterar la concentración de DA o 5-HT en esta estructura (Bymaster et al., 2002). Además, la Atx disminuye algunos tipos de impulsividad en la rata, a diferencia del efecto de drogas psicoestimulantes como las anfetaminas y el MP quienes incrementan la impulsividad con base a los parámetros del *5-Choice Serial Reaction Time Task* (5-CSRTT). Robinson y colaboradores (2008) evaluaron el efecto de la Atx en tres pruebas para medir impulsividad, encontrando que la Atx disminuye la conducta impulsiva al incrementar la preferencia a reforzadores grandes pero con retraso, disminuye la respuestas prematuras en el 5-CSRTT, así como mejora los tiempos de reacción (Robinson et al., 2009).

Clínicamente la efectividad de los medicamentos empleados en el TDAH está dada por sus características farmacológicas. Heal y colaboradores (2011) clasifican a los mismos con base en su mecanismo de acción o el neurotransmisor sobre el cual actúan (Figura 7); con la excepción de los agonistas al adrenoreceptor- α_2 : clonidina y guanfacina, todos los medicamentos empleados para tratar la sintomatología del TDAH actúan de forma indirecta o potenciando y prolongando la

acción de la liberación catecolaminérgica, ya sea por la estimulación de las catecolaminas en las terminales presinápticas, por la inhibición de la MAO, o bien actuando sobre proteínas transportadoras (Heal, Smith & Findling, 2011).

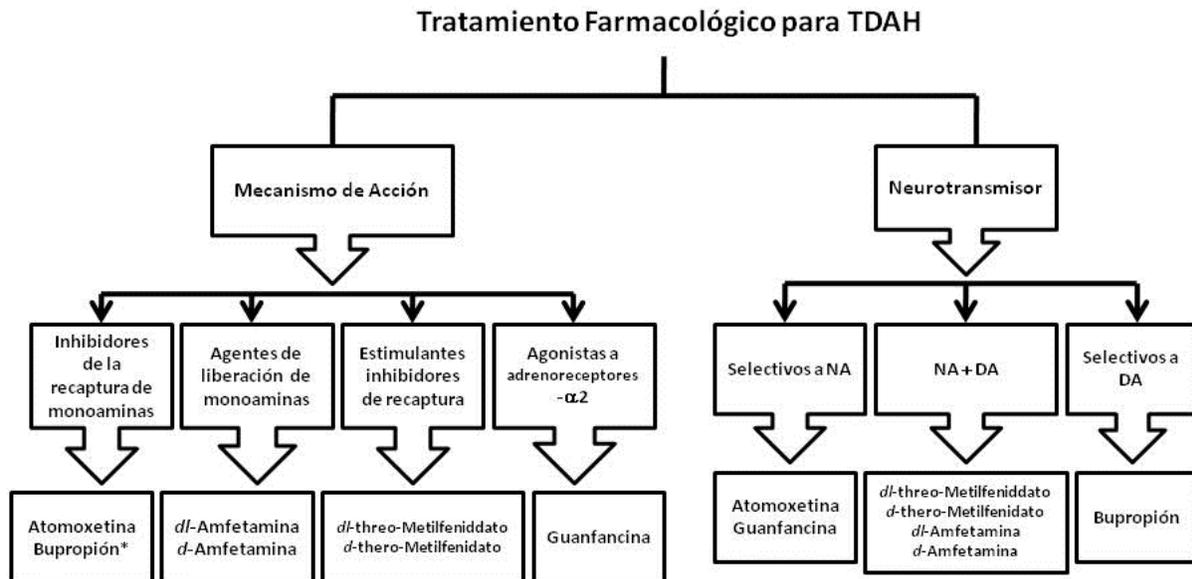


Figura 7. Modificado de Heal et al., 2011. Clasificación de los medicamentos empleados en el tratamiento del TDAH por su mecanismo de acción o el neurotransmisor en que actúan. *Sin aprobar para el tratamiento del TDAH.

En comparación con el sistema mesolímbico o el nigroestriatal, las inervaciones DA a la CPF son escasas. La mayor diferencia se encuentra en la baja densidad de DAT en las neuronas DA de CPF. Las proteínas transportadoras de la recaptura de catecolaminas muestran relativamente poca selectividad a los substratos, por ello, una cantidad de DA es secuestrada dentro de las terminales NA vía NET. Este mecanismo se muestra en la Figura 8. Esta inusual característica de la regulación DA en la CPF juega un importante papel en la vía de acción de la Atx (Heal, et al., 2011).

Se conocen dos tipos de receptores noradrenérgicos: alfa (α) y beta (β)-noradrenérgicos. Los receptores α -1(a, b y d) se encuentran en sitios postsinápticos mientras que los α -2 (a, b, c, y d) en sitios pre y postsinápticos. Los receptores β -noradrenérgicos se encuentran en mayor proporción en sitios postsinápticos pero pueden actuar como presinápticos para facilitar la liberación de NA. Los receptores α -2 actúan como autoreceptores localizados en las neuronas NA produciendo, cuando se ocupan, una disminución en la síntesis y liberación de NA. Los receptores NA actúan

por la vía de segundos mensajeros acoplándose a proteínas G (Feldman, Meyer & Quenzer, 1997; Nestler, Hyman & Malenka, 2001; Standord, 2001; Szabo, Gould & Manji, 2000).

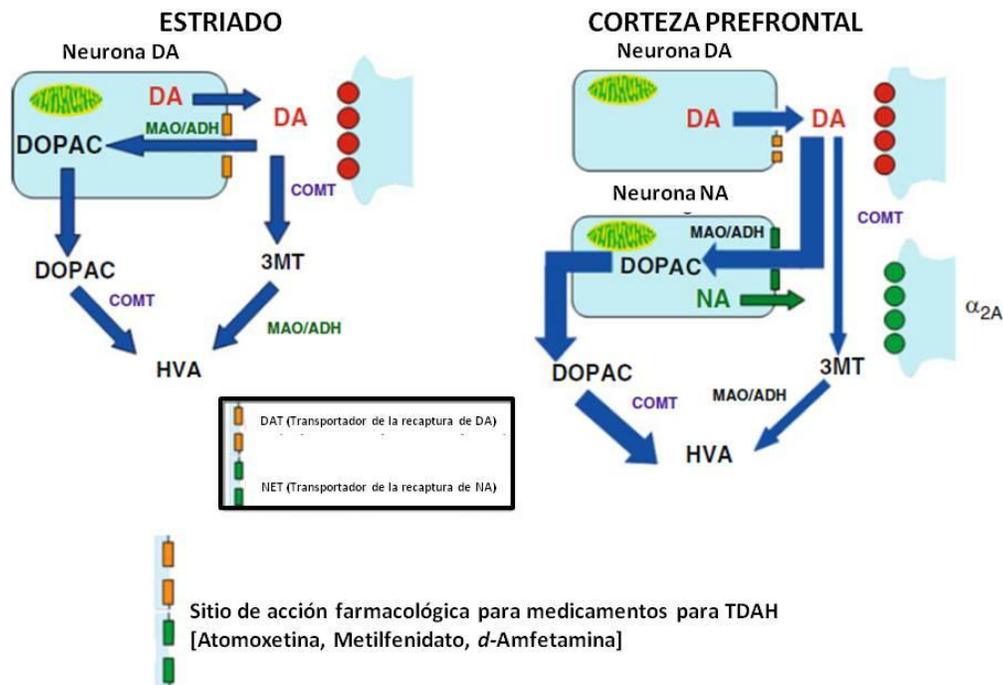


Figura 8. Diferencias en la recaptura y catabolismo entre la corteza prefrontal y el estriado. En la CPF, el número de sitios de unión del DAT son bajos en comparación con otras terminales dopaminérgicas como en el estriado. La mayoría de la dopamina que es liberada en la CPF es secuestrada dentro de neuronas noradrenérgicas vía NET. DOPAC ácido dihidroxifenilacético, 3-MT 3-metoxitiramina, HVA ácido homovanílico, MAO/ADH monoaminoxidasa/aldehído deshidrogenasa, COMT catecol-o-metiltransferasa. Imagen tomada de Heal et al., 2011.

El ATV y el LC tienen conexiones directas, de hecho las neuronas DA en ATV expresan receptores α_{2c} noradrenérgicos y estos provocan la liberación tónica de NA en ATV. Existe evidencia morfológica de la existencia de proyecciones directas de LC a ATV, además existen proyecciones indirectas de ATV a LC y éstas excitan neuronas NA (Viggiano et al., 2004). En ratas, el tratamiento con alcohol prenatal (día 8 al 20 de gestación) produce una disfunción de las neuronas DA en ATV, la cual se puede normalizar con el tratamiento crónico de MP en dosis bajas (1mg/Kg BW). Este incremento de los niveles extracelulares de DA no se observa en la NA cuando se administra a la par prazosin un antagonista selectivo del receptor α_{1} (Choong & Shen, 2004). En ratas normales las dosis bajas de MP incrementan de manera significativa los niveles de DA y NA en CPF (Berridge et al., 2006; Engert & Pruessner, 2008), al ser esta una zona muy

sensible a los niveles de catecolaminas. Algo importante a tomar en cuenta es que la CPF es muy sensible al ambiente neuroquímico, esto es, necesita de niveles óptimos de DA y NA para el control de la conducta y la atención. Berridge y colaboradores midieron los niveles de DA y NA en CPF (por medio de HPLC), la actividad locomotora (campo abierto) y atención (prueba de palanqueo), tras la administración oral (2.0 mg/Kg) e Intraperitoneal (de 0.25 a 1.0 mg/Kg) de MP. Las dosis bajas de MP mejoraron las funciones cognitivas que dependían de la CPF y que no dependen de los efectos de la activación locomotora (atención), además el MP incrementó el flujo de DA y NA en CPF, aunque fuera de esta estructura dosis tan bajas tienen un impacto mínimo sobre los niveles de estos neurotransmisores. Las dosis bajas de psicoestimulantes activan la neurotransmisión de catecolaminas además de mejorar la atención y funciones cognitivas de mayor demanda que están relacionadas a la CPF (Berridge et al., 2006).

El NAc es una estructura blanco de las neuronas DA de ATV y recibe aferencias también de neuronas NA del núcleo del tracto solitario. Así, se ha observado que la inyección local de agonistas NA modula la liberación de DA y a la inversa, la DA modula la liberación de NA, Viggiano y colaboradores (2004) mencionan que esta interacción por el núcleo de origen y el sitio blanco, así como la recaptura de DA por el NET hace difícil distinguir los efectos conductuales de la DA y la NA ante drogas. La interacción entre la DA y la NA se da en varias zonas del cerebro como en la CPF donde esta interacción es muy compleja. En estudios en los que han empleado ratas espontáneamente hipertensas (SHR) comparadas con sus controles ratas Wistar-Kyoto (WKY) muestran una reducción del número de fibras de TH y un incremento en la actividad NA en CPF (Viggiano et al., 2004).

Seu y colaboradores (2009) estudiaron como la elevación extracelular de los niveles de catecolaminas como producto de la inhibición farmacológica de las proteínas de recaptura de las mismas afecta la flexibilidad conductual en ratas. Los autores mencionan que los medicamentos que inhiben los transportadores de NA como el MP, atomoxetina y la desipramina, mejoran el rendimiento de ratas y disminuyen el número de errores perseverantes en pruebas de discriminación. Además, la inhibición farmacológica del NET en membrana NA, se puede asociar con una mejora en la flexibilidad conductual (esto no se observó en el caso de DA). De esto concluyen que el incremento en los niveles extracelulares de NA en regiones corticales producto de la inhibición de la recaptura de NA promueve múltiples aspectos en el control de la inhibición. Así, utilizando fármacos que inhiban el NET (MP, atomoxetina, desipramina),

obtuvieron una reducción en el número de ensayos en una prueba de discriminación, lo cual no sucedió en el caso de DAT. La inhibición del transportador DA puede resultar en la desinhibición de respuestas sin afectar otras formas de impulsividad como la perseverancia (Seu, Lang, Rivera & Jentsch, 2009).

En el caso del MP, poco se sabe sobre las consecuencias de este medicamento a largo plazo, Kuczenski & Segal (2002) estudiaron el efecto del tratamiento crónico con MP oral (0.75 a 3 mg/Kg) durante 4 semanas sobre los niveles de NA y DA en ratas jóvenes, el MP incrementó los niveles de NA en hipocampo sin afectar los niveles de DA en NAc. Además las dosis bajas de MP parecen no tener efectos visibles sobre los niveles de DA en CPF, esto concuerda con resultados previos de nuestro laboratorio en los cuales tras administrar una dosis única de MP (3 mg/Kg BW ig) no se observaron efectos significativos sobre los niveles de DA tanto en NAc como en CPFm (Kuckenski & Segal, 2002; Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar). De esta forma, el sistema NA podría jugar un papel importante sobre la acción terapéutica de los psicoestimulantes como el MP.

4. Metilfenidato

El MP es un estimulante del sistema nervioso central (SNC) que es empleado para el tratamiento de trastornos en los cuales el sistema DA mesolímbico cortical está comprometido como en el TDAH y narcolepsia en niños y personas adultas respectivamente. Las dosis de MP administradas para estos tratamientos varían con un rango entre los 10 a 60 mg/día en niños y adultos. El MP también es empleado como droga de abuso, inhalando tabletas molidas o inyectándose una solución de MP disuelta en agua. Algunos adictos se inyectan MP junto con heroína o cocaína. Los patrones observados por los adictos son: incremento de la dosis, depresión, y diversas consecuencias sociales y medicas por su abuso (*National toxicology program US, 2005*).

La muestra racémica (50:50) del MP en vivo, es un potente inhibidor de la recaptura de DA y NA, pero no lo es así para la 5-HT, además de que el MP no inhibe la MAO. Heal y colaboradores (2008) postularon que el MP y la cocaína son moduladores alostéricos (incrementando o disminuyendo indirectamente el efecto) del DAT e inducen el disparo dependiente del transporte de DA. Por lo tanto, parece que actúan como "agonistas inversos", invirtiendo el sentido usual de transporte de DA por el DAT (Heal, Smith, Kulkarni & Rowley, 2008). Esta hipótesis también podría explicar porque el MP es un potente psicoestimulante y tiene efectos recompensantes en los humanos, mientras que otros fármacos inhibidores de la recaptura de la DA como el bupropión no lo son (Heal et al., 2011).

Poco se sabe sobre el mecanismo neurológico que describa la acción conductual y cognoscitiva de este psicoestimulante. Como agonista indirecto de la DA, se ha sugerido que el MP aumenta la transmisión dopaminérgica en las áreas cerebrales que juegan un papel importante en aspectos cognitivos y emotivos, como lo son la CPFm y el NAc. Entre los efectos conductuales del MP se ha estudiado tanto en humanos como en modelos animales la atención, memoria de trabajo, impulsividad, hiperactividad, la conducta social espontánea, entre otros. Durante la adolescencia las ratas presentan un comportamiento muy vigoroso denominado conducta de juego social, que es de vital importancia para su desarrollo social y cognitivo. Vanderschuren y colaboradores (2008) analizaron esta conducta en ratas que trataron con MP (0.3 a 3 mg/Kg sc u oral) y observaron que el MP suprime el comportamiento de juego social sin alterar el interés social general. Además este efecto no fue sujeto a la tolerancia o sensibilización del MP y este efecto fue imitado por el inhibidor de recaptura de NA, la atomoxetina. Los autores sugieren que el

efecto del MP en el juego social es reflejo del efecto terapéutico en el TDAH, inhibiendo la conducta. Sin embargo, dada la importancia del juego social en el desarrollo, estos resultados pueden indicar un efecto negativo del MP (Vandershuren et al., 2008).

Así, los medicamentos que incrementan la función catecolaminérgica (MP y Atx) muestran eficacia clínica en los síntomas del TDAH, aunque su mecanismo de acción no es conocido con claridad. Anushka y colaboradores (2012) examinaron los efectos directos e indirectos de los agonistas a receptores DA y NA y los inhibidores selectivos a la recaptura de estos neurotransmisores en ratas sobre los niveles de impulsividad altos y bajos mediante el 5-CSRTT. Encontrando que a dosis bajas de quinpirol (agonista D2/D3) y sumanirol (agonista D2) hay una reducción de la impulsividad en el 5-CSRTT, mientras que a dosis altas se observó un aumento en el número de omisiones (inatención) y latencias de respuesta más lentas. La Atx y la guanfacina (agonista α -2 adrenoreceptor) disminuyeron el número de respuestas prematuras (impulsividad). Mientras que el inhibidor selectivo de la recaptura de DA, GBR12909 incremento los niveles de impulsividad, por otro lado; el MP no mostró efectos significativos en los niveles de impulsividad tanto en las ratas clasificadas como altamente impulsivas o las bajas. Los autores concluyen que los altos niveles de impulsividad pueden ser aminorados en ratas por drogas que mimeticen los efectos catecolaminérgicos (DA y NA), y que la activación selectiva de los receptores D2/D3 reduce los niveles altos de impulsividad en el 5-CSRTT (Anushka et al., 2012). En la Tabla 3 se muestran las características de los fármacos empleados comúnmente en clínica para la sintomatología del TDAH.

Como se mencionó anteriormente el tratamiento en etapa prenatal con alcohol (6 g/Kg) reduce la actividad de las neuronas DA en ATV y esto se puede normalizar tras el tratamiento con MP. Choong y Shen (2004) administraron MP icv en dosis ascendentes (0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, y 16.0 mg/Kg a intervalos de 2 a 3 minutos) en ratas tratadas prenatalmente con alcohol, concluyendo que el efecto del MP fue mediado por el incremento en los niveles extracelulares de DA, especulando que el MP normaliza la actividad de las neuronas DA en ATV incrementando la DA extracelular y activando las dendritas somáticas de los auto receptores de DA. Como resultado de una despolarización combinada con una hiperpolarización de las neuronas DA. Además, con una dosis baja de MP (1 mg/Kg iv.) se puede normalizar la actividad eléctrica de las neuronas DA en ATV en animales prenatalmente expuestos con alcohol (Choong & Shen, 2004).

Tabla 3. Características clínicas de la farmacoterapia del TDAH

Farmacoterapia	Mecanismo molecular	Eficacia (meta-análisis, tamaño del efecto)
Estimulantes		
Metilfenidato	Bloqueo de la recaptura DA, amplifica la duración de la respuesta de DA, desinhibe al receptor D2, inhibe la recaptura de NA.	0.92 (0.80, 1.05)
Dextroanfetamina	Incrementa la liberación de DA y NA en la hendidura sináptica, disminuye la recaptura dentro de la neurona presináptica, inhibe el catabolismo.	1.24 (0.88, 1.60)
Sales de anfetaminas mezcladas	Incrementa la liberación de DA y NA en la hendidura sináptica, disminuyen la recaptura en la neurona presináptica, inhiben el catabolismo.	1.34 (0.95, 1.72)
No estimulantes		
Atomoxetina	Inhibidor selectivo de la recaptura de NA	0.63 (0.57, 0.69)
Guanfancina	Agonista selectivo al receptor α_{2A} adrenérgico.	No disponible

Los datos son para formulaciones de liberación inmediata. Adaptada de Curatolo, D'Agati & Moavero, 2010.

Por otro lado, los psicoestimulantes como el MP se emplean en algunas ocasiones en conjunto con inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRIs) como la fluoxetina o el citalopram, en el tratamiento del TDAH cuando éste se presenta con depresión/ansiedad. La co-exposición también se presenta en pacientes que emplean SSRIs y que usan psicoestimulantes como “potenciadores cognitivos”. Se sabe que el MP produce cambios en la expresión genética en el prosencéfalo, estos efectos pueden mimetizar parcialmente los producidos por la cocaína (inhibidor de la recaptura DA/NA/5-HT). Waes y colaboradores (2010) investigaron como los SSRIs (fluoxetina y citalopram, 5 mg/Kg) modifican la regulación genética producida por el MP (2 a 5 mg/Kg) en el estriado y la corteza de ratas adolescentes. Observando que los SSRIs potencian la expresión de los factores de transcripción *zif 268* y *c-fos* (que regulan la expresión de genes efectores y por lo tanto están implicados en la neuroplasticidad subyacente a la adicción a psicoestimulante) inducidos por el MP en el cuerpo estriado, interpretando estos cambios moleculares como los producidos por la cocaína. Esta potenciación fue más robusta en las partes sensorimotoras del estriado (que median la conducta motora y se implican en los aspectos compulsivos del consumo de drogas). La combinación MP + SSRI también mejoró las

estereotipias conductuales, consistentes con una disfunción en los circuitos sensorimotores del estriado. La medida en que dicha regulación genética puede estar implicada en la adicción a psicoestimulantes aun no es muy clara, los autores concluyen que sus resultados sugieren que los SSRI's pueden incrementar el riesgo a la adicción al MP (Waes, Beverley, Marinelli, & Steiner, 2010).

Por su parte Juárez & Vázquez-Cortés (2010) analizaron los efectos de la exposición temprana a MP y su reexposición en la edad adulta, además de analizar el efecto del tratamiento con corticosterona (2 mg/Kg/día) durante la prepubertad en el consumo oral de MP (31 a 39 EPN) y posteriormente, el efecto de este psicoestimulante en la actividad locomotora en la prepubertad y la adultez en ratas. El MP incrementó la actividad locomotora independiente de la edad. En la edad adulta, se observó un consumo mayor de MP en el grupo que no fue expuesto previamente a esta sustancia, en comparación con el grupo que se expuso tempranamente al fármaco. La corticosterona no afectó el consumo de MP durante la adolescencia o la adultez, sin embargo, la actividad motora inducida por el MP fue mayor en la prepubertad de las ratas tratadas con corticosterona + MP que en los animales que solo recibieron MP. En la edad adulta, el MP produjo un incremento en la actividad locomotora en los animales que fueron tratados previamente con corticosterona + MP respecto a los que solo recibieron el tratamiento con corticosterona. Los autores sugieren que la exposición a la corticosterona en la adolescencia sensibiliza el efecto del MP sobre la actividad locomotora. El efecto diferencial de la actividad locomotora en la edad adulta depende de si la corticosterona fue administrada con o sin el MP durante la preadolescencia, lo que podría sugerir un efecto perdurable de la acción sinérgica entre estas dos sustancias (Juárez & Vázquez-Cortés, 2010).

Datos previos de nuestro laboratorio mostraron que la administración de una dosis sub aguda de MP (5 mg/Kg BW ig) incrementó la conducta de tipo exploratoria (*rearing*) respecto a sus controles independientemente del tratamiento prenatal (Figura 9). Por otro lado, ante una sola dosis aguda de MP no observamos un incremento significativo en los niveles de DA en NAc e incluso en CPFm se observó una ligera tendencia a la baja en las ratas que recibieron este tratamiento (Figuras 4 y 5). Es probable que la vía de administración empleada no fuera la adecuada para observar una respuesta del sistema dopaminérgico, es decir, al evaluar los niveles de neurotransmisor ante un solo reto no se obtuviera una respuesta del tratamiento postnatal. Otro aspecto importante a tener en cuenta fue la vía de administración que se empleó en este estudio

para el MP (ig). Si bien en la clínica el MP se administra por vía oral, en la mayoría de los estudios en que se analiza el efecto de este fármaco ya sea de manera conductual, analizando los niveles de DA o NA en alguna estructura o incluso registrando la respuesta eléctrica de las neuronas DA; se administran al menos 3 dosis de manera ip o icv.

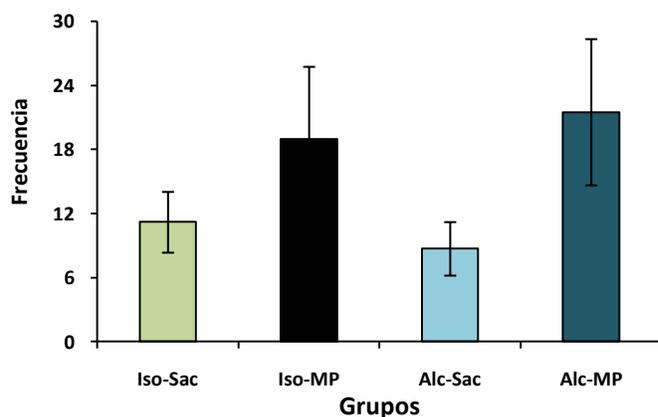


Figura 9. Frecuencia de exploraciones (*rearing*) el día de la administración de MP en la prueba de campo abierto para las ratas tratadas prenatalmente con sacarosa (Iso) y con alcohol (Alc) con MP postnatal. La prueba fue de 5 minutos. Diferencias en el tratamiento postnatal, MP > Sac, $p < 0.05$. Las barras indican la media \pm E.E.M.

El MP presenta una acción bifásica (hipótesis de Seeman & Madras), las dosis terapéuticas de MP elevan la DA tónica al inhibir la liberación de transmisores fáticos en estructuras subcorticales reduciendo así la estimulación de los receptores postsinápticos y la acción psicomotora en respuesta a estímulos salientes (Engert & Pruessner, 2008). Por su parte Volkow y colaboradores (2002) sugieren que tras la amplificación de la señal débil de DA en el estriado, el MP incrementa la percepción de estímulos o pruebas salientes. Así, el MP activa el flujo de DA y NA en CPF y estructuras subcorticales (Volkow, Fowler & Wang, 2002).

Los agonistas indirectos de DA se unen al DAT, éste es el principal mecanismo por el cual la DA es removida de la terminal en respuesta a estímulos salientes. Por la regulación de la concentración de DA en la sinapsis, el DAT determina tanto la magnitud como la señal DA. El MP induce el bloqueo del DAT incrementando así la concentración de DA tanto en la sinapsis como en el espacio extracelular.

Existen tres teorías sobre la funcionalidad del MP en el TDAH: a) tras el bloqueo del DAT se activa un incremento de la DA extracelular activando solo los autoreceptores presinápticos, lo que lleva a una atenuación de DA en respuesta a los estímulos salientes; b) el incremento de la DA extracelular subsecuente al bloqueo del DAT supera los efectos inhibidores por la activación de los autoreceptores presinápticos lo que conduce a un efecto neto de la acumulación de DA en la sinapsis y la subsecuente amplificación de la señal de DA; y, c) Últimamente se está

desarrollando una futura hipótesis que involucra a la DA subcortical y la NA prefrontal como los mecanismos que expliquen las acciones clínicas del TDAH (Engert & Pruessner, 2008).

Poco se sabe sobre el efecto a largo plazo del MP, en niños y adultos con TDAH utilizando la técnica de tomografía de emisión de fotones, se ha observado un incremento en la densidad de DAT en los ganglios basales a comparación de sujetos normales. Feron y colaboradores (2005) estudiaron el efecto del tratamiento prolongado con MP en el sistema dopaminérgico de 5 niños con TDAH. Tres meses después de iniciado el tratamiento farmacológico se observó una reducción en la actividad del DAT del cuerpo estriado (caudado y putamen), la cual se incrementó entre los 9 y 20 meses de tratamiento con MP. Al concluir el tratamiento se observó un incremento en la actividad del DAT nuevamente. Los autores concluyen que el MP no produce un cambio permanente en la vía DA nigroestriada (Feron et al., 2005). En otro estudio en ratas a las que se les administró MP durante la adolescencia por 4 semanas, no se encontró un incremento en los niveles de DA en NAc o alguna respuesta de sensibilización locomotora al MP, de esto los autores sugieren que no existe asociación entre el tratamiento prolongado con MP y un posible riesgo de adicción a futuro (Kuczenski & Segal, 2002).

En contra parte, Andersen y colaboradores (2001) administraron MP ip (2 mg/Kg) durante la adolescencia temprana (20 a 35 EPN) y en etapa adulta (50 a 65 EPN) a ratas buscando una posible dependencia a cocaína por un efecto a sensibilización de drogas por el MP en etapa adulta. Las ratas tratadas con MP permanecieron menos tiempo en el lugar donde se les administraba cocaína respecto al lugar donde se les administraba el vehículo (prueba de preferencia al lugar); considerando que el sistema DA mesolímbico cortical está implicado en la actividad locomotora y las acciones recompensantes ante sustancias de abuso, los autores sugieren que la exposición temprana a MP causa alteraciones duraderas en la funcionalidad DA (Andersen, Arvanitogiannis, Pliakas, LeBlanc & Carlezon, 2001). Por su parte, Brandon y colaboradores (2003), administraron por 7 días MP (2 mg/Kg ip) a ratas de 4 semanas de EPN y entre los 14 y 21 días posteriores a la administración del MP midieron la actividad electrofisiológica de las neuronas DA en ATV, la actividad neuronal se incrementó los 3 días posteriores al cese del MP y se disminuyó al transcurrir 2 semanas. Los autores concluyen que la exposición durante etapas tempranas al MP produce cambios neuronales que podrían asociarse con un incremento en la conducta en etapas posteriores en ratas (Brandon, Marinelli & White, 2003).

En adición, los modelos animales para TDAH deben de considerar factores genéticos, conductuales y la acción de psicoestimulantes; lo que se conoce como; validez de confrontación (componentes conductuales), validez de constructo (componentes genéticos) y validez de tipo predictiva (acción de psicoestimulantes), en este último muy pocos modelos de los disponibles en la literatura cumplen la validez de tipo predictiva (Van der Kooji & Glennon, 2007, Russell, 2011). En el caso de las ratas SHR el modelo más empleado para TDAH el MP no ejerce efecto en ellas, además en algunos paradigmas para medir impulsividad o atención como el 5-CSRTT el MP incrementa los niveles de impulsividad con base a los parámetros de esa prueba (Robinson et al., 2009). Un resumen de se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Validación de modelos animales de TDAH en Validez de Predicción.

Modelo	Metilfenidato	
	SI	NO
Modelo prenatal BrdU		x
Lesiones neonatales dopaminérgicas	x	
Ratas con retardo en el crecimiento cerebeloso		x
Ratón de rueda hiperactivo	x	
SHR		x
WKHA		x
Ratón DAT KO	x	
Ratón Coloboma		x
Ratón con mutación tiroidea		x

BrdU, 5'bromo-2'deoxiuridina; **DAT**, transportador de dopamina; **KO**, knockout; **SHR**, ratas espontáneamente hipertensas, **WKHA**, ratas Wistar-Kyoto hiperactivas. Tabla adaptada de; Van der Kooij & Glennon, 2007.

5. Impulsividad

El concepto impulsividad también es polifacético e implica varios aspectos, mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a distintos niveles (Basar et al., 2010; Dalley, Mar, Economidou & Robbins, 2008). En el DSM-V (*American Psychiatric Association, 2013*) se define a la impulsividad como el actuar en el momento, en respuesta a los estímulos inmediatos, actuando de forma momentánea y sin un plan o consideración de los resultados, con dificultad para establecer y seguir planes, ante un sentimiento de urgencia y de conductas de auto-daño bajo estrés emocional. La impulsividad es una faceta del amplio dominio de rasgos de la personalidad, la desinhibición. En una extensa revisión hecha por Moeller y colaboradores (2001), sobre la relación de la impulsividad en desórdenes psiquiátricos, los autores discuten sobre los altos niveles de impulsividad observados en pacientes con desórdenes de conducta, personalidad, adicción a sustancias y trastorno bipolar, en comparación con sujetos normales, concluyendo que la impulsividad, tal como se define sobre la base de un enfoque biopsicosocial, es una característica clave en varios trastornos psiquiátricos. Las intervenciones conductuales y farmacológicas que son eficaces para tratar la impulsividad deben ser incorporadas en el tratamiento para estos trastornos conductuales. Así, la alta comorbilidad entre la impulsividad y su presencia en varios trastornos psiquiátricos indica una asociación entre la conducta impulsiva y los sustratos biológicos de estos desordenes (Moeller, Barratt, Dougherty, Schmitz & Swann 2001). En la conducta impulsiva existe una disfunción del control inhibitorio, se ha propuesto que existen dos tipos de conducta impulsiva: una motora y otra cognitiva o de elección (Winstanley et al., 2005; Dalley et al., 2008; Hand et al., 2009; Basar et al., 2010; Russell, 2011; Juárez et al., 2013). La primera se refiere a una disfunción en la inhibición de una respuesta o la emisión de una respuesta prematura (Dellu-Hagedorn, 2006; Eagle et al., 2011; Sesia et al., 2010), y la segunda a una incapacidad de soportar la demora en la presentación de un reforzador, esto es a la elección de un reforzador pequeño pero inmediato en su presentación respecto a uno mayor pero con demora (Cardinal & Howes, 2005; Dalley et al., 2008; Robinson et al., 2009; Winstanley et al., 2005).

Además, recientemente se ha descrito que no sólo los sistemas DA y NA están involucrados en los mecanismos que requieren de control e inhibición de respuestas, sino también los sistemas serotoninérgicos (5-HT) y acetilcolinérgicos (ACh), juegan un papel importante en el control de la impulsividad. Dalley y colaboradores (2008) mencionan que la forma más compleja de

inhibición es aquella que involucra un retraso en la presentación del reforzador, la impulsividad cognitiva (IC) y se sabe que lesiones en la CPFm son sensibles a este tipo de impulsividad, incluyendo lesiones en la corteza cingulada anterior (Cgl), y de acuerdo a los criterios de la impulsividad medida por la prueba de 5-CSRT, esta conducta se incrementa por lesiones en CPF, específicamente las que incluyen lesiones en Cgl y corteza infralímbica (IL) (Dalley et al., 2008). El NAc es el componente clave que regula los procesos neurales de la impulsividad. Los datos de estudios de imagen revisados por Basar y colaboradores (2010) sugieren que el NAc/SV está involucrado en la impulsividad cognitiva, mientras que los estudios de lesiones en animales indican que lesiones en *Core* del NAc facilitan la impulsividad en pruebas que involucran una elección intertemporal y promueven una aversión al riesgo menos impulsiva y tendencia en pruebas que involucran opciones con diferencias probabilísticas. Además, los estudios en animales apoyan la participación *Core* en la adquisición y expresión del carácter de incentivo y del *Shell* en la valoración hedónica y codificación bivalentes del mismo. La participación del NAc en estos procesos parece estar dada por los sistemas dopaminérgico, glutamatérgico y opioide. La modificación en la actividad de neurotransmisores, especialmente de DA, se ha propuesto como la base de los cambios observados en estudios de imagen funcional, observándose la influencia de las entradas a NAc en la producción de respuestas conductuales. Los parámetros en las pruebas conductuales reflejan que la función de inhibición de respuestas es alterada por la acción neuroquímica y la estimulación eléctrica local tanto en el *Core* como en el *Shell* del NAc (Basar et al., 2010). Así, el uso de lesiones en animales de laboratorio ha servido para entender el sustrato neuronal de la conducta impulsiva, las estructuras en las que se han hecho lesiones incluyen al NAc en sus dos subunidades (*core* y *shell*), la corteza prefrontal, y el prosencéfalo (parte del cerebro que se desarrolla desde la parte del tubo neural y comprende los hemisferios, el hipotálamo y sistema límbico). En la Tabla 5 se muestra algunas lesiones y sus efectos en la conducta impulsiva.

Lesiones bilaterales neurotóxicas en el *core* del NAc incrementan la impulsividad cognitiva (preferencia de reforzador pequeño pero inmediato), mientras que esto no se observa tras lesionar el *shell* del NAc. Y en ratas con lesiones bilaterales en corteza orbitofrontal (COF) muestran un incremento en la preferencia a elegir un reforzador pequeño pero inmediato en su presentación respecto a uno mayor pero con una demora significativa. Contrario con esta observación, un estudio describe que tras lesionar la COF hay un decremento en la impulsividad cognitiva

(incremento en la preferencia del reforzador grande con demora en su presentación). Así, se ha propuesto que los sistemas cortico-frontales y estriado-ventrales son los responsables de regular el control inhibitorio (Dalley et al., 2008; Winstanley et al., 2005). El esquema que propone esto se muestra en la Figura 10, donde las vías descendentes de Cg1, COF y IL terminan en el NAc el cual recibe una inervación DA proveniente de ATV, mientras que la vía NA de LC sólo llega al *shell* del NAc.

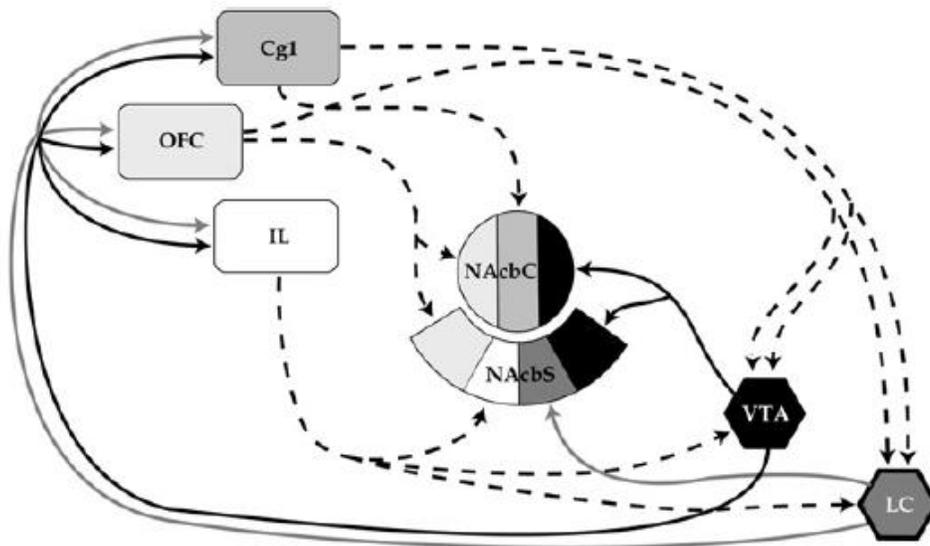


Figura 10. Sistema Frontocortical-ventral estriatal, encargado del control y regulación de la conducta impulsiva en roedores. Vías descendentes de la corteza del cíngulo anterior (Cg1), Corteza orbitofrontal (OFC) y corteza infralímbica (IL) terminan en el *core* del núcleo accumbens (NAcbC) y el *shell* (NAcbS), de igual forma que en el área tegmental ventral (ATV) y en el locus coeruleus (LC), el origen de los sistemas dopaminérgicos y noradrenérgicos respectivamente. Las ratas que muestran altos niveles de impulsividad en el 5-CSRTT presentan daños en laCg1. Tomado de Dalley et al., 2008.

La impulsividad es el núcleo central de diversos trastornos neuropsiquiátricos que incluyen al TDAH, desórdenes de conducta anti-social y la adicción a drogas. Investigaciones recientes han puesto de relieve la naturaleza polifacética de la impulsividad y la variedad de mecanismos neuronales y psicológicos para explicar los problemas conductuales en el deterioro de auto-control. Robinson y colaboradores (2009) realizaron una conceptualización novedosa para evaluar la impulsividad basada en la eficiencia de “espera” y “paro” como la explicación de las bases psicológicas y neuronales de la impulsividad y su alta comorbilidad en patologías como el TDAH o la adicción a drogas. Seleccionando ratas por sus niveles altos de impulsividad en una

prueba de tiempos de reacción análoga a las pruebas de funcionamiento continuo en humanos donde se observan altos niveles de impulsividad en toma de decisiones en una tarea de retardo de recompensa, mediante el 5-CSRTT. Las ratas, no fueron afectadas en el *stop-signal task*, para la inhibición motora. La naturaleza de esta especificidad en la impulsividad de espera fue confirmada por medio de un condicionamiento Pavloviano, para medir la impulsividad cognitiva. Estos resultados son congruentes con otros estudios que reportan que ratas con altos niveles de impulsividad son propensas a desarrollar conductas de búsqueda compulsiva a la cocaína (Belin et al., 2008). Los autores sugieren que esta incapacidad para tolerar la demora de una recompensa y el estímulo asociado a la recompensa son los candidatos conductuales para el endofenotipo que predispone diversos trastornos neuropsiquiátricos (Robinson et al., 2009).

Es sabido que la administración aguda de psicoestimulantes como las anfetaminas afecta la conducta impulsiva. Utilizando dos modelos de impulsividad (5-CSRTT y DRT), los cuales proveen medidas de control inhibitorio (cognitivo y motor) y dos fármacos que actúan sobre el receptor cannabinoide CB1 (SR141716A y O-2050), Wiskerke y colaboradores (2011) observaron el efecto del sistema cannabinoide sobre la conducta impulsiva ya que existe evidencia de que los cambios agudos producidos por los psicoestimulantes activan el sistema endógeno cannabinoide y la actividad del receptor CB1 que modula la impulsividad tanto en roedores como en humanos. El agonista a CB1 SR141716A o el antagonista O-2050 (dosis dependiente) mejoraron el control inhibitorio en el 5-CSRTT, por otra parte, ambos compuestos disminuyeron de forma similar los déficits en el control inhibitorio inducidos por las anfetaminas, lo cual sugiere que la activación del receptor CB1 por la liberación endógena de cannabinoides regula este aspecto de la conducta impulsiva. La activación directa del receptor CB1 por Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) no afectó el control inhibitorio. SR141716A y O-2050 no afectaron la línea base de la elección impulsiva en el DRT, la Δ^9 -THC aguda redujo la elección impulsiva en la vía dependiente del receptor CB1. Estos resultados muestran el complejo papel que juega el receptor cannabinoide CB1 en la regulación de la actividad de la impulsividad de acción y la elección impulsiva al producir un efecto opuesto al observado con las anfetaminas en ambas conductas (Wiskerke, Stoop, Schettters, Schoffelmeer & Pattij, 2011).

Tabla 5. Sustrato neurofisiológico de la Impulsividad

Lesión	Efecto	Referencia
Lesiones citotóxicas en el <i>Core</i> del NAc.	Las lesiones en el <i>Core</i> causan impulsividad cognitiva y deterioro en el aprendizaje con reforzamiento demorado.	Cardinal & Howes, 2005.
Infusiones neurotóxicas intra-NAc con 6-OH, evaluando la impulsividad cognitiva, ante el tratamiento con <i>d</i> -anfetamina, 8-OH-DPAT (agonista 5-HT _{1A}) y WAY 100635 (antagonista 5-HT _{1A}).	El 8-OH-DPAT incrementó los niveles de impulsividad en las ratas control (<i>sham</i>), efecto que fue bloqueado por el WAY 100635. Sin embargo, el 8-OH-DPAT no mostró efecto alguno sobre los niveles de impulsividad en las ratas lesionadas 6-OH-NAc. El 8-OH-DPAT no modifico por sí mismo la ejecución de las pruebas bloqueando el efecto de la <i>d</i> -anfetamina en las ratas control, mientras que el WAY 100635 incrementó el efecto de la <i>d</i> -anfetamina en todos los sujetos.	Winstanley et al., 2005.
Lesiones en <i>Core</i> y <i>Shell</i> del NAc.	Facilitan la impulsividad en pruebas que involucran una elección inter temporal y promueven una aversión al riesgo menos impulsiva y tendencia en pruebas que involucran opciones con diferencias probabilísticas. Mientras que lesiones en el <i>Shell</i> afectan la valoración hedónica del reforzador.	Basar et al., 2010.
Estimulación cerebral profunda (DBS) en NAc (<i>Core</i> & <i>Shell</i>).	DBS en el <i>Shell</i> del NAc produjo un incremento en la impulsividad motora pero un número menor de respuestas perseverantes incrementándose también los niveles de DA y 5-HT, la DBS en el <i>Core</i> de NAc no tuvo efectos sobre la impulsividad motora, aunque decremento el número de respuestas perseverantes lo cual indica un mejor control de impulsos.	Sesia et al., 2010.
Cánula en el <i>Core</i> y <i>Shell</i> del NAc, administrando el agonista a los receptores D _{2/3} , quinpirol y el antagonista a D _{2/3} , nafadotrida.	La impulsividad y la hiperactividad están reguladas de forma separada por el <i>Core</i> y el <i>Shell</i> del NAc y en ratas altamente impulsivas, se observó una respuesta mayor a la activación de los receptores D _{2/3} en estas regiones.	Moreno et al., 2013.

Sobre el uso de modelos animales para TDAH, Bari & Robbins (2011) en una revisión realizada sobre los diferentes modelos animales actuales concluyen que los enfoques en investigación deben comenzar a dar cabida a las múltiples facetas de este síndrome, puesto que hasta ahora se ha trabajado de manera aislada. Además de que una sólida formación en el conocimiento del funcionamiento neurocognitivo, de los criterios de diagnóstico más refinados y los subtipos clínicos descritos (predominante impulsivo/hiperactivo, predominante inatento y subtipo combinado) deben orientar a las futuras investigaciones. En la Tabla 6 se realiza una comparación entre los criterios diagnósticos del DSM-IV para TDAH respecto a las pruebas usadas en modelos animales para esta patología.

Tabla 6. Ejemplos de criterios del DSM-IV para diagnóstico de TDAH y tareas conductuales usadas para evaluar inatención, hiperactividad e impulsividad en roedores. Tomada de Bari & Robbins, 2011.

Ejemplos de criterios del DSM-IV para TDAH	Ejemplos de pruebas usadas para evaluar criterios del DSM-IV en modelos animales de TDAH
<p>Inatención:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A menudo tiene dificultades para mantener la atención en tareas o actividades de juego. • A menudo tiene dificultades para organizar tareas y actividades. • Se distrae fácilmente por estímulos externos. 	<ul style="list-style-type: none"> • 5-CSRTT (precisión). • Tarea visual de tiempo. • Tarea de atención dividida.
<p>Hiperactividad/Impulsividad:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A menudo mueve en exceso manos o pies o se retuerce en el asiento. • A menudo corre o salta excesivamente en situaciones inapropiadas. • A menudo "se mueve" o suele actuar como si fuera "impulsado por un motor". • A menudo habla demasiado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cajas de actividad Locomotora. • Campo abierto. • Laberinto Låt. • Pasillos Circulares.
<p>Impulsividad:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A menudo responde antes de que finalice la pregunta. • A menudo tiene dificultades para esperar su turno. • A menudo interrumpe o se entromete con otros (por ejemplo, se entromete en conversaciones o juegos). 	<ul style="list-style-type: none"> • 5-CSRTT (respuestas prematuras). • Stop-signal task • Tareas de palanqueo. • DRL • Delay discounting • Fixed interval/extinction schedule.

En la literatura existen diversas estrategias para medir la conducta de impulsividad, los paradigmas para evaluar esta conducta están basados en algunas medidas características del control inhibitorio como son: 1) castigo y/o extinción; 2) recompensa-elección; y, 3) inhibición de la respuesta/ atención (Moeller et al., 2001).

El patrón de respuesta en una prueba temporal como el intervalo de pico (*peak-interval*), permite hacer inferencias respecto a las fuentes de variación que están involucradas en las conductas de intervalos temporales. Los factores no-temporales como la conducta impulsiva puede afectar la validez de estas inferencias. Mattel & Portugal (2007), utilizaron un paradigma de *peak-interval* en ratas (Sprague-Dawley), las cuales entrenaron a 15s (PI) o a intervalos variables dependientes de la conducta a 15s. El procedimiento de *15s-mixed behaviorally dependent Variable Interval/Peak-Interval* (bdVIPI) fue probado por varias sesiones. El entrenamiento prolongado en

PI produjo una distribución bi-modal en los tiempos en que los sujetos comenzaban a responder para el reforzador temporalmente predecible. Esto sugiere que son múltiples procesos los que contribuyen en los patrones conductuales obtenidos en este procedimiento. El entrenamiento en bdVIPI eliminó esta distribución bi-modal en los sujetos, disminuyendo de ese modo la variación en los tiempos de inicio. Estos resultados indican que las opciones de respuesta alternativas pueden modular el efecto de la conducta impulsiva en las pruebas temporales (Mattel & Portugal, 2007).

Muchos paradigmas experimentales que se utilizan para evaluar la conducta impulsiva también requieren de capacidades no-específicas como la estimación del tiempo, la cual puede interactuar con las mediciones y enmascarar los efectos benéficos de los psicoestimulantes (utilizados comúnmente en el tratamiento del TDAH) sobre la impulsividad dado que estos medicamentos aceleran el reloj interno. Rivalan y colaboradores (2007), investigaron los efectos de la supresión conductual no-específica en la impulsividad mediante un calendario de número consecutivo fijo (FCN) y analizaron si las anfetaminas administradas previamente, incrementan las respuestas impulsivas en esta tarea, y si esto podría tener efectos benéficos cuando se promueven las respuestas impulsivas. Utilizando ratas privadas de alimento, se entrenaron a presionar una palanca 8 veces antes de presionar una segunda palanca que les proporcionaba comida. Las respuestas prematuras no se reforzaron y se reiniciaba en contador con ellas. Inicialmente con una señal de luz, se indicaba al sujeto el número de veces que tenía que presionar la palanca (FCN8*cue*) y este estímulo fue retirado al final del entrenamiento (FCN8). Las ratas fueron entrenadas en un calendario FCN16*cue* que fue probado con *d*-anfetamina. El estímulo luminoso mejoró la ejecución, observándose también en FCN16*cue* a comparación de FCN8. Las respuestas prematuras bajo estas dos condiciones no se relacionaron. Dosis bajas de anfetaminas disminuyeron el número de respuestas prematuras en FCN16*cue*. Los autores concluyen que la supresión de capacidades no-específicas en la conducta impulsiva en un paradigma FCN, se asocia con condiciones que permiten la expresión de déficits inhibitorios, permitiendo que los efectos benéficos de los psicoestimulantes observados en la clínica puedan evidenciarse experimentalmente (Rivalan, Grégoire & Dellu-Hagedorn, 2007). Las ratas espontáneamente hiperactivas (SHR) es una cepa comúnmente utilizada como modelo animal de TDAH. Sin embargo, la acción de los psicoestimulantes sobre las ratas SHR no es muy clara. Dado que el MP es el tratamiento de uso común en clínica para tratar el TDAH en la infancia, es importante

estudiar el efecto del mismo en modelos animales juveniles. Bizot y colaboradores (2007) emplearon un paradigma de tolerancia a la demora en la presentación del reforzador mediante un laberinto en T, donde la rata tenía que elegir entre un reforzador pequeño e inmediato en su presentación, respecto a uno mayor pero con demora. Las ratas adultas SHR, WKY y WIS se compararon ante un retraso de 15s en la presentación del reforzador con demora. El efecto del MP sobre la tolerancia a 30s de demora, se estudio en las 3 cepas de ratas en edad adulta y solamente en las WIS juveniles (4.5 a 6.5 semanas EPN). En las ratas adultas, la habilidad de espera fue menor en las ratas SHR respecto a sus cepas control. La elección del reforzador mayor fue mejorada por el MP (3 y 5 mg/Kg) en las ratas juveniles, pero en las ratas adultas no se observó este efecto a la dosis baja. Estos datos apoyan la idea de que las ratas SHR son más impulsivas que sus cepas control (WKY y WIS). Sin embargo, la dosis de MP empleada no mejoró la tolerancia al retraso en las ratas adultas independientemente de la cepa. La disminución en los niveles de impulsividad inducidos por el MP en las ratas WIS juveniles indican que el uso de animales en edad juvenil pueden ser empleados para probar el potencial terapéutico de los tratamientos farmacológicos para TDAH (Bizot et al., 2007).

Los alcohólicos y los consumidores de grandes cantidades de alcohol tienen niveles de impulsividad mayores respecto a la gente que no consume alcohol o que consume niveles bajos. Este puede ser un factor que predisponga la exposición a drogas (genético) y a los cambios neuroadaptativos asociados a la exposición al alcohol. Wilhelm y colaboradores (2007) examinaron el papel de la genética, comparando los niveles de impulsividad en dos líneas de ratones, una que consume voluntariamente etanol en grandes cantidades (STDRHI2) y poco (STDRLO2) en cantidades de alcohol al 10%. Los autores registraron la preferencia a reforzadores pequeños pero próximos de sacarosa (20 µg) respecto a mayores con demora (2, 4, 8 y 12s), utilizando un paradigma *Go/No-Go*, midiendo la capacidad de inhibición del ratón de introducir su nariz en un orificio en respuesta a señales específicas. No se observaron diferencias entre los ratones STDRHI2 y STDRLO2 en el *Delay-discounting*. En la prueba *Go/No-Go*, los ratones STDRHI2 hicieron más respuestas durante el período pre-señal sin cometer más falsas alarmas, en comparación con los ratones STDRLO2. Estos resultados sugieren que las crías selectivas a corto plazo para consumo relativo alto de alcohol pueden también ser selectivas para probar animales ante deficiencia en la inhibición de respuestas, así el consumo de etanol puede incrementar la impulsividad motora respecto a la cognitiva (Wilhelm, Reeves, Phillips &

Mitchell, 2007). En un estudio posterior (Wilhelm & Mitchell, 2008), analizaron el papel de los genes sobre la conducta impulsiva en dos líneas de ratas preferentes y no preferentes al consumo de etanol (HAD y LAD). La conducta impulsiva se midió con dos paradigmas diferentes de *Delay-discounting*. Con el DDT se examinó la sensibilidad ante los reforzadores que son demorados en su presentación, paradigma que es empleado comúnmente para registrar impulsividad cognitiva (Anushka et al., 2011; Belin et al., 2008; Wiskerke et al., 2011), por otro lado, con la probabilidad de demora se evaluó la sensibilidad de espera ante un reforzador incierto en su presentación y esto refleja la toma de riesgo y la evaluación de riesgos. Las ratas HAD presentaron niveles mayores de impulsividad en el DDT y niveles de probabilidad de recompensa más prolongados que las LAD. Las tasas de demora asociadas con el descuento por demora y la probabilidad correlacionaron ampliamente. Estos resultados sugieren que las líneas de ratas selectivas al consumo de altas cantidades de etanol son más sensibles a la espera y a las respuestas probabilísticas (incierto). La sensibilidad a la demora y a las respuestas probabilísticas pueden ser predictivas de un consumo futuro de alcohol u otras sustancias en la predisposición genética de los individuos.

Los animales frecuentemente toman elecciones entre alternativas diferentes, buscando la obtención de beneficio máximo. Pueden evaluar entre la magnitud y la probabilidad de los resultados disponibles. Se conoce poco sobre las bases de los mecanismos neurales en estos procesos o qué es lo que predispone a los individuos a ser “conservadores” en sus elecciones o tomar riesgos excesivos (evitando/prefiriendo la incertidumbre, respectivamente). Es sabido que el *Core* del NAc contribuye en la capacidad que tienen las ratas para “elegir” reforzadores grandes con demora respecto a pequeños pero inmediatos. Las lesiones en el *Core* causan impulsividad cognitiva y deterioro en el aprendizaje con reforzamiento demorado. Sin embargo, cómo el NAc contribuye a la elección no es clara e involucra reforzamientos probabilísticos, cómo, entre un grande, pero incierto reforzador es seleccionado respecto a uno pequeño pero seguro. Cardinal y Howes (2005) examinaron el efecto de lesiones excitotóxicas en el *Core* del NAc sobre la elección probabilística en ratas. Las ratas eligieron entre un solo pellet ($p=1$) respecto a 4 con un grado de incertidumbre ($p=1, 0.5, 0.25, 0.125$ y 0.0625) en una prueba de ensayos discretos, la probabilidad de que el reforzador mayor se presentara decrementó o se incrementó a través de la sesión. Las ratas fueron entrenadas en este paradigma y posteriormente recibieron una lesión excitotóxica o la simulación de la cirugía (controles) en el *Core* del NAc.

Las ratas lesionadas mostraron elección de aversión-al riesgo, eligiendo el reforzador mayor con menos frecuencia que los controles cuando éste era incierto, obteniendo menos alimento. Las ratas se comportaron de forma diferente cuando solo había 1 pellet respecto a cuando había la posibilidad de 4, $p=0.32$ (controles) y $p=0.70$ (*Core*-lesionadas) al final de la prueba. Cuando la probabilidad no varió en la sesión, las ratas *Core*-lesionadas y los controles eligieron el reforzador mayor cuando éste era seguro, y eligieron más el pequeño cuando el reforzador grande fue muy incierto ($p=0.0625$), sin observarse diferencias entre ambos grupos. Así, estos resultados apoyan la idea de que el *Core* del NAc contribuye a la selección de acciones incitando la elección de un reforzador incierto, como también el de un demorado en su presentación (Cardinal & Howes, 2005).

Se sabe que existe una reducción de la disponibilidad de los receptores $D_{2/3}$ en el estriado de ratas hiper-impulsivas (HI) en el 5-CSRTT. Sin embargo, el lugar anatómico de la disfunción de los receptores $D_{2/3}$ en ratas es desconocido. Moreno y colaboradores (2013) investigaron si está disfunción en los receptores en las ratas HI está localizada en el *Core* o el *Shell* del NAc, para ello seleccionaron entre ratas poco impulsivas (LI) y muy impulsivas (HI) con base en su ejecución en el 5-CSRTT e implantaron una cánula en el *Core* y el *Shell* del NAc, además administraron el agonista a los receptores $D_{2/3}$, quinpirol (0.1, 0.3 y 1 μg por perfusión), registrando su efecto en las ratas LI y HI en el 5-CSRTT, junto con la actividad locomotora espontánea en el campo abierto. El quinpirol en el *Core* del NAc incrementó las respuestas prematuras en las ratas HI pero no en las LI. Por otro lado, en el *Shell* el quinpirol incrementó la actividad locomotora en las ratas HI a diferencia de en las LI. Este efecto fue bloqueado por la administración intra-*Shell* del antagonista a $D_{2/3}$, nafadotrida (0.03 μg). No obstante, la nafadotrida fue inefectiva bloqueando los efectos del quinpirole al administrarla intra-*Core*, en el número de respuestas prematuras en las ratas HI. Estos resultados indican que la impulsividad y la hiperactividad están reguladas de forma separada por el *Core* y el *Shell* del NAc y que las ratas HI mostraron una respuesta mayor a la activación de los receptores $D_{2/3}$ en estas regiones. Así, los autores sugieren que la hiperactividad y la impulsividad observadas en el TDAH pueden dissociarse neuralmente a nivel del NAc (Moreno et al., 2013).

Anker y colaboradores (2008) examinaron una forma de conducta impulsiva (inhibición deteriorada) ante cocaína o comida como reforzadores, en ratas propensas a la adicción y resistentes a la adicción que fueron criadas para consumo alto (HiS) o bajo (LoS) de sacarina

(durante varias generaciones). Utilizando un paradigma *Go/No-Go*, la cocaína y la comida fueron los componentes *Go* y la inhibición de la respuesta durante el periodo subsecuente de no-reforzamiento el componente *No-Go*. Las ratas se entrenaron inicialmente para auto administrarse intravenosamente cocaína (0.4 mg/Kg) en un programa FR1 (*Fixed-ratio*) durante las sesiones diarias *Go/No-Go* que consistían en 3 refuerzos con cocaína (*Go*) alternados con 2 componentes no-reforzados (*No-Go*), cada uno señalado por un estímulo diferente. La respuesta a la droga fue comparada ante tres valores de FR (FR1, FR3 y FR5) y tres dosis de cocaína (0.2, 0.4 y 0.8 mg/Kg). Un procedimiento similar *Go/No-Go* fue usado con la comida como reforzador ante las 3 condiciones FR. Durante los componentes *Go* para la cocaína intravenosa, las ratas hembras se auto-administraron más infusiones de 0.2 y 0.4 mg/Kg que los machos, indicando diferencias sexuales ante el consumo de cocaína. Durante los períodos *No-Go* bajo la condición de cocaína, las ratas HiS y las hembras respondieron más que las LoS y los machos, indicando esto un fenotipo y diferencias sexuales en el deterioro de la inhibición. Durante los componentes *Go* con comida como reforzador, los machos respondieron más y ganaron más pellets que las hembras, pero no hubo efecto del fenotipo o diferencias sexuales en las respuestas *No-go* (impulsividad). Los autores concluyen que las ratas HiS y las hembras son más propensas que las LoS y los machos a adquirir conductas impulsivas de búsqueda de drogas (*Impulsive drug-seeking behavior*) (Anker, Gliddon & Carroll, 2008).

Tanto la impulsividad como la búsqueda novedosa se han sugerido como marcadores para la predisposición a la adicción a drogas. Sin embargo, su relevancia en la vulnerabilidad a la búsqueda compulsiva y el consumo de drogas no es conocida. Belin y colaboradores (2008) reportan que mientras haya una alta reactividad para predecir la vulnerabilidad para iniciar el auto consumo de cocaína, los niveles altos de impulsividad predicen el desarrollo de la adicción como conducta en la rata, incluyendo el consumo compulsivo o persistente de la droga, a pesar de sus efectos adversos. En modelos animales, la inhabilidad para esperar antes de ejecutar una respuesta correcta, se conoce como un fenotipo de impulsividad, medida como las respuestas prematuras en la prueba de 5-CSRTT o de atención visual sostenida, como una forma distinta de reactividad locomotora en un medio novedoso, un fenotipo de *sensación de búsqueda*. Este tipo de modelos animales sugieren la existencia de un “fenotipo vulnerable” que predispone la adicción a sustancias. De esta forma empleando ratas que respondían rápidamente (HR) respecto a las que tenían respuestas bajas (LR), los autores registraron el consumo a cocaína con la prueba

de 5-CSRTT. Las ratas HR mostraron un incremento a la sensibilidad de los efectos *reforzantes* de la cocaína, los niveles de impulsividad correlacionaron con el consumo de etanol, y predijeron a su vez la auto administración escalonada de la cocaína. Este estudio muestra evidencia experimental de que el cambio de impulsividad a compulsividad ocurre durante el desarrollo de la conducta adictiva, esto provee señales del inicio y los mecanismos neurales involucrados en la adicción a las drogas, sugiriendo que tanto el estriado ventral como dorsal son las estructuras asociadas al control en el consumo de drogas, por los niveles bajos de receptores D2/D3 en el estriado (Belin, Mar, Dalley, Robbins & Everitt, 2008).

La estimulación cerebral profunda (DBS) en el NAc es considerada como una terapia para desórdenes psiquiátricos refractarios, que tienen a la impulsividad como síntoma central (Sesia et al., 2010). Las conexiones diferentes que reciben las dos regiones del NAc (*Core & Shell*) son cruciales en el control impulsivo. En modelos animales, se ha observado que la DBS cambia los niveles de impulsividad motora. Sesia y colaboradores (2010) probaron la hipótesis de que los cambios en la impulsividad motora por la DBS (30 μ A) en el NAc está asociada a los cambios en los niveles de DA y 5-HT. Se estimuló a ratas por medio de electrodos tanto en el *Core* como en el *Shell*, y la conducta fue registrada en una prueba de palanqueo registrando los tiempos de reacción, además en un segundo experimento los niveles tanto de DA como de 5-HT se evaluaron en la CPFm y NAc ante la DBS en *Core* y *Shell*. Los sujetos control recibieron únicamente la cirugía simulada. Los autores reportan que la DBS en el *Shell* del NAc produce un incremento en la impulsividad motora pero un número menor de respuestas perseverantes, asociado esto con el incremento en los niveles de DA y 5-HT en el NAc, sin embargo, esto no sucedió en CPFm. La DBS en el *Core* de NAc no tuvo efectos sobre la impulsividad motora, aunque decremento el número de respuestas perseverantes lo cual indica un mejor control de impulsos. En estos sujetos, no se encontraron efectos en los niveles de neurotransmisores. Así, la DBS en el *Shell* del NAc tiene efectos adversos sobre la impulsividad motora que se acompañan del incremento en los niveles de DA y 5-HT en NAc, mientras que la DBS en el *Core* resulta en una mejora conductual (Sesia et al., 2010).

Los niveles altos de impulsividad y la sensibilidad diferencial a los efectos conductuales que produce una droga, se han asociado con el consumo crónico de sustancias y la dependencia a las mismas. Utilizando un modelo animal (ratas adultas Sprague-Dawley), Stanis y colaboradores (2008), analizaron las diferencias individuales en la actividad inducida por la cocaína como

predictiva de niveles altos de impulsividad en el 5-CSRTT. Los animales se clasificaron en bajos o altos ejecutores a cocaína (LCR o HCR ante 10 mg/Kg ip), con base en su rendimiento en la prueba de campo abierto. Las ratas fueron entrenadas en un paradigma de *Delay-discounting* (DDT), además, los autores analizaron el efecto de las anfetaminas y del agonista a 5-HT_{A1}, 8-OHDPAT en DDT. Por último, todas las ratas fueron re-expuestas al campo abierto para determinar que los fenotipos (LCR y HCR) fueran estables. Se observaron diferencias en la línea base de la impulsividad cognitiva entre grupos, siendo las ratas HCR más impulsivas (eligieron más el reforzador pequeño) respecto a las LCR. El tratamiento con anfetaminas disminuyó la elección del reforzador mayor en las ratas LCR, pero no afectó la elección en las HCR. La impulsividad cognitiva se incrementó en ambos fenotipos tras el tratamiento con 8-OHDPAT. Cuando se re-expuso al animal al campo abierto, las ratas LCR fueron similares a las HCR, mostrando tolerancia. Los autores sugieren que la sensibilidad diferencial a la locomoción inducida por la cocaína es predictiva de la impulsividad, además, las diferencias neurobiológicas en las ratas LCR y HCR pueden aportar información sobre los mecanismos que contribuyen a la vulnerabilidad del uso crónico de drogas o a la dependencia (Stanis, Burns, Sherrill & Gulley, 2008).

Como se ha mencionado ya, la impulsividad es una conducta que comprende procesos diferentes. Es la llave de muchas psicopatologías como manía, desórdenes adictivos, TDAH, entre otros. El nivel en que la impulsividad está implicada en estas patologías aun no está bien descrito. En estos desórdenes, la sensación o búsqueda de drogas y los déficits cognitivos están muy relacionados, pero la naturaleza de esta relación aun no es muy clara. Utilizando un modelo animal para impulsividad basado en las diferencias inter-individuales espontáneas, Dellu-Hagedorn (2006), utilizó una prueba operante con una variación en los grados de inhibición conductual, tiempos de ejecución e impulsividad motora y cognitiva en ratas. Las pruebas constaron de un programa de números consecutivos fijos (FCN) interpretado como la capacidad para terminar una acción y recibir un reforzador, y un calendario de reforzamiento de intervalo-fijo/extinción (niveles altos de respuesta), y una prueba de recompensa atrasada (*Delay-discounting*). Además, las medidas de respuestas locomotoras novedosas en un corredor circular ante la administración de anfetaminas, y la memoria de trabajo en un laberinto radial de 8 brazos fue analizada. Este nuevo enfoque muestra como distintos aspectos de la impulsividad y la hiperactividad pueden ser expresados sobre la base de las grandes diferencias individuales que

varían en una población normal de las ratas. Los déficits inhibitorios se relacionaron con la respuesta alta a psicoestimulantes característica de las ratas, la predisposición al auto administración de anfetaminas y que está asociada con el incremento en la actividad dopaminérgica en estructuras asociadas a la memoria de trabajo e hiperactividad. Así, los individuos presentan distintas características conductuales asociadas a sus niveles de impulsividad (Dellu-Hagedorn, 2006).

El desarrollo histórico y la aplicación del paradigma conductual del 5-CSRTT en la evaluación de los efectos de la acción de drogas y otras manipulaciones de ejecución atencional (control de estímulos) en ratas. El 5-CSRTT se utiliza para medir los efectos de tratamientos con drogas sistémicas y también de manipulaciones centrales como lesiones neuroquímicas, en aspectos de control atencional, incluyendo atención sostenida y dividida, además de los sistemas de atención involucrados en patologías como el TDAH y la enfermedad de Alzheimer. En el 5-CSRTT se pueden medir varios aspectos de control atencional como medidas de precisión, respuestas prematuras, latencia de respuestas correctas y latencia para recoger los pellets obtenidos. Los sistemas monoaminérgicos y colinérgicos parece que tienen papeles diferentes en los diferentes aspectos de rendimiento en el 5-CSRTT, en un sistema neuronal centrado en la CPF, Cgl y estriado. Considerando estas conclusiones en contextos teóricos y metodológicos de estudios farmacológicos de atención en animales y humanos (Robbins, 2002; Basar et al., 2010).

Orduña y colaboradores (2009) emplearon un programa de reforzamiento diferencial de tasas bajas (DRL) para evaluar la ejecución de ratas SHR, WKY y WIS, en procesos temporales e inhibición de respuestas en dos modelos cuantitativos: análisis de desviación de pico (un valor bajo indica una disminución en la tasa de reforzamiento) y un modelo de regulación temporal. Los sujetos fueron divididos en dos grupos, el primero se expuso a 70 sesiones bajo un DRL de 10s. Las ratas SHR mostraron un déficit temporal en los procesos de inhibición de respuesta, sin embargo, no se observaron diferencias entre cepas en las respuestas para los procesos de sincronización. El segundo grupo de ratas fue expuesto a 30 sesiones de DRL 10s, antes de recibir tres dosis de MP (2, 4 y 8 mg/Kg). Los resultados obtenidos en ambos modelos fueron consistentes e indicaron que con dosis altas de MP la ejecución de las tres cepas de ratas disminuye. La impulsividad mostrada por las ratas SHR durante la adquisición, además de la hiperactividad (incremento en el número de respuestas) apoya el uso de esta cepa como un modelo animal adecuado para el estudio de TDAH. No obstante, la evidencia de un

procesamiento temporal normal (las ratas SHR no presentan un déficit en la sensibilidad al tiempo) y el que el MP empeorara la inhibición de respuestas en esta cepa contradice lo anterior. La variabilidad en los resultados sugiere la necesidad de revisar más a profundidad las conductas de temporalización en otros modelos animales con el fin de encontrar un modelo animal idóneo para TDAH (Orduña, Valencia-Torres & Bouzas, 2009). Estudios dosis-respuesta se utilizan para evaluar la predisponibilidad genética de la vulnerabilidad individual ante sustancias de abuso. Sin embargo, las curvas dosis-respuesta ante el auto administración de morfina no han sido examinadas o no se han reportado diferencias evidentes. García-Lecumberri y colaboradores (2010) definieron la curva dosis-respuesta para la auto administración de la morfina (0.25, 0.5, 1 y 2 mg/Kg) en ratas Lewis (LEW) y en su control histocompatible ratas Fischer 344 (F344). Además, evaluaron la elección impulsiva en ambas cepas de ratas en presencia o ausencia de las mismas dosis de morfina utilizando un paradigma de reforzamiento operante con una tasa progresiva de respuesta (1:5). Las ratas LEW se auto-administraron significativamente más morfina ante cualquier dosis administrada y presentaron niveles mayores de impulsividad comparadas con las F344. Las ratas F344 mostraron una preferencia por la dosis de 0.5 mg/Kg, a diferencia de la cepa LEW para la cual todas las dosis fueron reforzantes. Las diferencias basales entre ambas cepas en la impulsividad no afectaron la administración de morfina.

Estas observaciones sugieren que la cepa LEW muestra una alta vulnerabilidad fenotípica al consumo de drogas, de esta forma la impulsividad podría facilitar la adquisición de una adicción (García-Lecumberri et al., 2010). Las ratas SHR muestran características conductuales observadas en el TDAH: hiperactividad, déficit de atención e impulsividad. Hand y colaboradores (2009) utilizaron este modelo animal para evaluar los efectos de *d*-anfetamina en la impulsividad, ante la elección de un reforzador pequeño pero inmediato respecto a uno mayor pero con demora en su presentación. La *d*-anfetamina (1, 3.2 & 5.6 mg/Kg) fue administrada en las ratas SHR y en sus controles WKY antes de las sesiones de elección. Las ratas SHR fueron más impulsivas respecto a las WKY (prefirieron el reforzador pequeño pero inmediato). La *d*-anfetamina no tuvo efecto ante la preferencia de las ratas SHR, pero incrementó la elección del reforzador pequeño, e inmediato en las ratas WKY con las dosis bajas de anfetamina (1 y 3.2 mg/Kg). Así, la *d*-anfetamina no redujo la impulsividad en las ya impulsivas ratas SHR, pero incrementó la impulsividad en ratas que no son inicialmente impulsivas (Hand, Fox & Reilly, 2009). Los niveles altos de impulsividad se han definido como la tendencia a elegir entre un

reforzador pequeño pero inmediato sobre uno mayor pero con demora en su presentación, en ratones preferentes a alcohol (HAP) se observa niveles altos de impulsividad respecto a los no preferentes (LAP). Oberli & Grahame (2009) utilizaron una prueba de descuento por demora (DDT), utilizando sacarina como reforzador para analizar los niveles de impulsividad en dos líneas de ratones (HAP y LAP2 y HS/Ibg). Tanto los ratones HAP 1 como HAP2 fueron más impulsivos que los LAP2 y sus controles progenitores (HS/Ibg), además las líneas HAP mostraron un incremento en sus tiempos de reacción respecto a las líneas LAP. No se observaron otro tipo de diferencias (consumo de sacarina, número total de ensayos completados) consistente con las diferencias ontogenéticas en el consumo de alcohol ya existentes. Así, las ratas preferentes al consumo de altas dosis de alcohol fueron más impulsivas ante el consumo de sacarina como reforzador que las LAP. Estos datos sugieren que la impulsividad es una diferencia heredable que precede al alcoholismo (Oberlin & Grahame, 2009).

En la Tabla 7 se resumen algunos de los modelos más empleados para medir impulsividad en la literatura con sus principales características. Las diferencias en la elección impulsiva y las exploraciones en ambientes diferenciales son factores que predicen la vulnerabilidad a drogas de abuso. Perry y colaboradores (2008) determinaron si la influencia de la exploración en ambientes novedosos afecta la elección impulsiva, y si la *d*-anfetamina (0.5, 1 y 2.0 mg/Kg sc) y el MP (2.5, 5.0 o 10.0 mg/Kg sc) alteran la elección impulsiva de forma diferencial en las ratas Sprague-Dawley. La condición inicial de demora fue de 6s, y está se decremento o incremento (1s), las ratas fueron destetadas a los 21 días EPN, ya sea en una condición enriquecida (EC) o una condición aislada (IC) y se registraron en edad adulta en una prueba de retraso. Las ratas EC fueron menos impulsivas que las IC. Adicionalmente, la administración de *d*-anfetaminas, pero no de MP incrementó la elección impulsiva en las ratas EC. En las ratas IC la *d*-anfetamina y el MP disminuyeron los niveles de impulsividad. Estos resultados indican que la exploración en ambientes novedosos influye en la elección impulsiva y modula los efectos de los psicoestimulantes en la elección impulsiva. Específicamente, los psicoestimulantes pueden disminuir la elección impulsiva dependiente de ambientes novedosos en individuos con altos niveles de impulsividad (con TDAH), mientras que pueden aumentar la elección impulsiva en individuos con bajos niveles de impulsividad (Perry, Stairs & Bardo, 2008).

Tabla 7. Modelos animales para evaluar Impulsividad.

Modelo	Principio	Interpretación
Intervalo máximo (Peak-Interval) Matell & Portugal (2007).	El patrón de respuesta en una prueba temporal como el intervalo máximo (<i>peak-interval</i>), permite hacer inferencias respecto a las fuentes de variación que están involucradas en las conductas de intervalos temporales. Los factores no-temporales como la conducta impulsiva puede afectar la validez de estas inferencias.	Las opciones de respuesta alternativas pueden modular el efecto de la conducta impulsiva en las pruebas temporales.
FCN (Fixed Consecutive Number) Rivalan et al., 2007.	Muchos paradigmas experimentales que se utilizan para evaluar la conducta impulsiva también requieren de capacidades no-específicas como la estimación del tiempo. Esta puede interactuar con las mediciones y enmascarar los efectos benéficos de los psicoestimulantes (utilizados comúnmente en el tratamiento del TDAH) sobre la impulsividad dado que estos medicamentos aceleran el reloj interno.	La supresión de capacidades no-específicas en la conducta impulsiva en un paradigma FCN, se asocia con condiciones que permiten la expresión de déficits inhibitorios, permitiendo que los efectos benéficos de los psicoestimulantes observados en la clínica puedan evidenciarse experimentalmente.
Tolerancia a la demora en la presentación del reforzador Bizot et al., 2007.	Elección entre un reforzador pequeño e inmediato en su presentación, respecto a uno mayor pero con demora (15 y 30s).	Los sujetos que eligen más el reforzador grande pero con demora en su presentación son menos impulsivos que los que seleccionan el inmediato.
Descuento por demora (Delay Discounting). Probabilidad de Demora Wilhelm & Mitchell (2008).	Sensibilidad ante los reforzadores que son demorados en su presentación, paradigma que es empleado comúnmente para registrar impulsividad cognitiva, por otro lado, con la probabilidad de demora se evaluó la sensibilidad de espera ante un reforzador incierto en su presentación y esto refleja la toma de riesgo y la evaluación de riesgos.	La sensibilidad a la demora y a las respuestas probabilísticas pueden ser predictivas de un consumo futuro de alcohol u otras sustancias en la predisposición genética de los individuos.
Go/No go Anker et al., 2008.	Inhibición de una respuesta o la emisión de una respuesta prematura.	Los autores concluyen que las ratas criadas para consumos grandes de cocaína son más propensas que las de consumo bajo a adquirir conductas impulsivas de búsqueda de drogas (<i>impulsive drug-seeking behavior</i>).

Tabla 7. Continuación.

5-CSRTT <i>(5-choice serial reaction time task)</i> Robbins, 2002.	Se utiliza para medir los efectos de tratamientos con drogas sistémicas y también de manipulaciones centrales como lesiones neuroquímicas, en aspectos de control atencional, incluyendo atención sostenida y dividida, además de los sistemas de atención involucrados en patologías como el TDAH y la enfermedad de Alzheimer.	En el 5-CSRTT se pueden medir varios aspectos de control atencional como medidas de precisión, respuestas prematuras, latencia de respuestas correctas y latencia para recoger los pellets obtenidos. Los sistemas monoaminérgicos y colinérgicos parece que tienen papeles diferentes en los diferentes aspectos de rendimiento en el 5-CSRTT, en un sistema neuronal centrado en la CPF, Cgl y estriado.
<i>Wait-to-go-signal task/ Delay-discounting task</i> Juárez et al., 2013.	Consiste en que las ratas crucen por un puente de transición tras la presentación de una señal y así obtengan un reforzador (impulsividad motora), o que crucen el puente tras la elección entre dos alternativas de reforzador en una prueba <i>Delay-discounting task</i> (Impulsividad Cognitiva).	Utilizando animales con una disfunción en el sistema dopaminérgico producida por el tratamiento prenatal con alcohol, las ratas alcohol presentan mayores niveles de impulsividad respecto a sus controles isocalóricos.
Reforzamiento diferencial a tasas bajas (DRL). Orduña et al., 2009.	Procesos temporales e inhibición de respuestas en dos modelos cuantitativos: análisis de desviación de pico (un valor bajo indica una disminución en la tasa de reforzamiento) y un modelo de regulación temporal.	La impulsividad mostrada por las ratas SHR durante la adquisición, además de la hiperactividad (incremento en el número de respuestas) apoya el uso de esta cepa como un modelo animal adecuado para el estudio de TDAH. No obstante, la evidencia de un procesamiento temporal normal (las ratas SHR no presentan un déficit en la sensibilidad al tiempo) y el que el MP empeorara la inhibición de respuestas en esta cepa contradice lo anterior.

La razón por la cual nos es de interés evaluar los dos tipos de impulsividad es porque con base a las evidencias en la literatura es posible que distintos mecanismos estén involucrados en cada tipo de conducta impulsiva y que estos a su vez presenten diferencias plásticas o procesos de sensibilización distintos.

El uso de modelos animales en el estudio de la impulsividad ha aportado grandes contribuciones al entendimiento ésta conducta en relación a trastornos como el TDAH (Bari & Robbins, 2011; Juárez et al., 2013). Con este propósito en el laboratorio de Farmacología y Conducta se desarrollo un paradigma en ratas que permite evaluar tanto la impulsividad de tipo motor como la cognitiva en un período corto de entrenamiento (Juárez et al., 2013). Esta conducta operante consiste en que las ratas crucen por un puente de transición tras la presentación de una señal y así obtengan el reforzador, de esta manera esta prueba se considera una *wait-to-go-signal task* (impulsividad motora), o que crucen el puente tras la elección entre dos alternativas de reforzador en una prueba *Delay-discounting task* (impulsividad cognitiva). Para probar este protocolo se emplearon animales con una disfunción en el sistema dopaminérgico producida por el tratamiento prenatal con alcohol (que ya se ha observado produce inatención e impulsividad en ratas, Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar).

En el presente estudio se evaluó la impulsividad de tipo cognitivo (IC) y la motora (IM) utilizando el puente de transición desarrollado en nuestro laboratorio (Juárez, 2010; Juárez et al., 2013, (ver anexo 2). Esta conducta se registró en edad prepuber con un tratamiento postnatal crónico de MP ip (3 mg/Kg BW) y nuevamente en edad adulta (sin tratamiento postnatal), esto para evaluar si la conducta persiste en ratas que recibieron un tratamiento postnatal con MP y para comparar los efectos del tratamiento con el psicoestimulante, esto con base en las estructuras asociadas a cada conducta en la literatura.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha demostrado que la exposición a alcohol prenatal (días 8 a 20) produce una afectación del sistema dopaminérgico (DA) caracterizada por un decremento en la actividad espontánea de las neuronas DA del área tegmental ventral (ATV), la cual puede ser normalizada tras la administración de metilfenidato (MP), un fármaco psicoestimulante que incrementa tanto los niveles de DA como los de noradrenalina (NA) extracelular. Ambos neurotransmisores juegan un papel importante en funciones cognitivas. Se sabe que el sistema DA está implicado en aspectos motivacionales de la conducta así como en los mecanismos que regulan el reforzamiento. Asimismo, la alteración del sistema dopaminérgico se ha asociado en clínica a diversos trastornos conductuales como el Trastorno de déficit de atención con/sin hiperactividad (TDAH), una patología en la que es común que esté asociada la conducta de tipo impulsiva.

Existen diversos tratamientos farmacológicos que se han usado tanto en clínica como experimentalmente para mejorar este tipo de trastornos de conducta, siendo los psicoestimulantes los más indicados tales como las anfetaminas y el MP, éste último actúa bloqueando la recaptura de DA y NA en la terminal presináptica incrementando, por este mecanismo, la disponibilidad de estos neurotransmisores. El mecanismo por el cual el MP mejora las alteraciones conductuales no está claramente establecido, además de que no existe evidencia concluyente en la actualidad de cómo estos efectos están relacionados con su acción en el sistema nervioso central. Es sabido que la corteza prefrontal medial (CPFm) juega un papel importante en la regulación de diversas funciones cognitivas y sus conexiones con el estriado están implicadas, en la conducta impulsiva, la atención, la toma de decisiones, entre otras. Así mismo, la DA presente en el núcleo accumbens (NAc) y el estriado dorsal (SD) se relaciona con diferentes aspectos conductuales, siendo el NAc un componente clave que regula los procesos neurales de la impulsividad. Datos previos de nuestro laboratorio han mostrado que los animales con tratamiento prenatal con alcohol muestran hiperactividad, mayor impulsividad y alteraciones en la atención, además de un incremento en los niveles de DA en NAc y CPFm, respecto a sus controles.

Hay muy pocos estudios que han explorado las alteraciones conductuales producidas por el tratamiento prenatal con alcohol y todos ellos, con excepción del nuestro, evalúan la conducta únicamente en edad adulta. Así, hasta donde sabemos, existen muy pocos datos relacionados con

las alteraciones de conducta antes de la pubertad y no hay antecedentes de su persistencia en la etapa adulta en sujetos expuestos prenatalmente al alcohol.

En la conducta impulsiva existe una disfunción del control inhibitorio, entre otros aspectos que son mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a diferente nivel y con base en las evidencias encontradas en la literatura es posible que distintos mecanismos estén involucrados en cada tipo de conducta impulsiva y que estos a su vez presenten diferencias plásticas o procesos de sensibilización diferentes cuando son expuestos a fármacos.

Con estas bases, el presente estudio analizó el efecto del MP sobre la impulsividad motora y cognitiva en ratas tratadas prenatalmente con alcohol, así como la respuesta dopaminérgica y noradrenérgica en núcleo accumbens y corteza prefrontal medial en ratas macho prepúberes y adultas.

OBJETIVO

Analizar el efecto del metilfenidato en la conducta impulsiva de tipo motora y cognitiva en ratas prepúberes tratadas prenatalmente con alcohol y su prevalencia en la edad adulta, así como, el efecto de este tratamiento en los niveles de catecolaminas en el núcleo accumbens y corteza prefrontal medial en ratas prepúberes y adultas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Examinar si existen diferencias entre los tipos de impulsividad (motora y cognitiva) en ratas que fueron expuestas prenatalmente a alcohol en etapa prepúber y en edad adulta.
2. Evaluar el efecto del tratamiento con MP sobre los diferentes tipos de impulsividad (motora y cognitiva) en ratas prepúberes que fueron expuestas prenatalmente a alcohol.
3. Analizar la prevalencia de la impulsividad (motora y cognitiva) en ratas adultas que fueron expuestas prenatalmente a alcohol y tratadas con metilfenidato en la preadolescencia.
4. Analizar el efecto del tratamiento con metilfenidato sobre los niveles de DA y NA en NAc y CPFm en ratas prepúberes.
5. Analizar los niveles de DA y NA en NAc y CPFm, en ratas adultas que fueron expuestas a MP antes de la pubertad y que fueron expuestas prenatalmente a alcohol.

HIPÓTESIS

Existirán diferencias entre los tipos de impulsividad (motora y cognitiva) en los sujetos tratados prenatalmente con alcohol, además esta diferencia en la conducta impulsiva prevalecerá en la edad adulta. El tratamiento con metilfenidato disminuirá ambos tipos de impulsividad en ratas prepúberes y se minimizará esta conducta en la edad adulta respecto a las que no recibieron tratamiento con el psicoestimulante. Adicionalmente los niveles de DA y NA en NAc y CPFm serán mayores en las ratas tratadas con MP respecto a sus controles en la etapa prepúber, pero no habrá diferencias en los niveles de catecolaminas entre los animales de diferente tratamiento postnatal en la edad adulta.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. Existirán diferencias entre los niveles de impulsividad (motora y cognitiva), en sujetos tratados prenatalmente con alcohol en etapa prepúber y adulta debido al sustrato neurofisiológico que regula cada conducta.
2. El MP disminuirá los niveles de impulsividad (motora y cognitiva), pero la magnitud del efecto será más evidente en la impulsividad de tipo motor o reactivo en ratas prepúberes.
3. El tratamiento con MP en etapa prepúber reducirá los niveles de ambos tipos de impulsividad en ratas adultas respecto a sus controles.
4. El MP incrementará los niveles de DA y NA en NAc y CPFm en ratas en etapa prepúber respecto a sus controles.
5. No habrá diferencias en los niveles de DA y NA en la edad adulta entre las ratas que recibieron MP antes de la pubertad y sus controles.

METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas Wistar (WIS), del bioterio del Instituto de Neurociencias, Universidad de Guadalajara, las cuales permanecieron en condiciones estándar de bioterio, en un ciclo de 12 horas luz-oscuridad (08:00/20:00), con libre acceso a comida para las hembras gestantes y agua, *ad libitum*.

1. Tratamiento prenatal

Se utilizaron 16 ratas hembras WIS con un peso corporal de entre 200 y 250 g antes del apareamiento y siendo su primera gesta.

Alcohol (Alc): se les administró alcohol intragástricamente del día 8 al 20 de gestación a una concentración del 20% de alcohol (dosis 6 g/Kg BW) en dos tomas diarias (3g/Kg BW) con una separación de 5 horas entre cada dosis; excepto los fines de semana en los cuales se les administrará una dosis única de 4g/Kg de peso corporal (ver anexo 1).

Durante el tiempo de tratamiento se pesó a las ratas diariamente para cerciorarse de que siempre recibieran la misma dosis de alcohol.

2. Tratamiento de las crías

Las crías macho producto de las hembras tratadas con alcohol durante la gestación se destetaron a los 21 días de nacidos (EPN) y se dividieron en 2 grupos (n=40); uno integrado por aquellos sujetos a los que se les evaluó la impulsividad cognitiva (IC) y otro al que se le registró la impulsividad motora (IM). Hasta antes de comenzar el protocolo de impulsividad los animales permanecieron en condiciones estándar de bioterio con agua y comida *ad libitum*.

A partir del día 34 y hasta el 39 (EPN) a la mitad de las ratas de los grupos (IC e IM) se les administró MP ip en una dosis de 3 mg/Kg BW y a la mitad restante de cada grupo se les administró solución salina fisiológica (SS) ip estéril(ver anexo 2). Transcurridos 40 minutos después de la administración de MP ip o SS ip se evaluó la conducta impulsiva correspondiente (cognitiva o motora).

3. Impulsividad

Se evaluó el control inhibitorio de tipo motor o reactivo (IM) y el control inhibitorio de tipo cognitivo o de elección (IC) utilizando “el puente de transición” (Juárez et al., 2013). De acuerdo

a los parámetros establecidos y descritos a continuación para cada tipo de impulsividad. Esta conducta se registró en edad prepúber a la par del tratamiento con MP (34 a 39 EPN) y en edad adulta sin tratamiento farmacológico (84 a 89 EPN).

Control Inhibitorio de Tipo Motor o Reactivo

El control inhibitorio motor o reactivo se puede definir como la falta de inhibición ante una conducta preponderante. En este estudio se evaluó por medio de una prueba de inhibición de una conducta ante estímulos auditivos (*wait-to-go-signal task*) en el puente de transición (Juárez et al., 2013). La descripción detallada del aparato se describe en el anexo 3.

PRIVACIÓN DE ALIMENTO PREVIO A LA PRUEBA: El período de privación de alimento comenzó a las 20:00 hrs del día 23 EPN hasta las 10:00 hrs. del día siguiente (24 EPN) cuando los sujetos fueron abastecidos con pellas de 45 mg cada una para hacer un total de 900 mg/sujeto (20 pellas/sujeto). Una vez consumido se les abasteció con alimento estándar 4 g/sujeto, transcurridas 2 horas. Al día siguiente se inicio la fase de moldeamiento sin interrumpir el protocolo de privación de alimento el cual se mantuvo hasta la conclusión de la prueba.

MOLDEAMIENTO: La rata, privada de alimento, fue colocada en alguna de las plataformas (A o C) y se entrenó hasta que aprendió que podía obtener alimento en el otro extremo del puente (25 y 26 EPN). Posteriormente se colocó en la plataforma A, pero sin poder cruzar por el puente hasta después de haber escuchado un sonido con una demora de un segundo (350 ms, 4 kHz, 40 dB). Se realizaron 60 ensayos por dos días consecutivos, reforzando al animal cuando abandonaba la plataforma dentro de los 200 cs (centésimas de segundo) posteriores a la presentación del estímulo. Al tercer día la demora del estímulo fue de 2s para la obtención del reforzador (29 y 30 EPN) y se consideró que el sujeto adquirió el criterio de aprendizaje de prueba cuando realizó 32 aciertos en una sesión de 60 ensayos.

PRUEBA CONDUCTUAL: Los 6 días sucesivos al moldeamiento fueron los días de prueba (34 a 39 EPN), en etapa prepúber se administró MP ip (3 mg/Kg BW) o SS 40 minutos antes de realizarse la prueba. La rata cruzó el puente de transición bajo las condiciones anteriormente descritas y cada sesión constó de 60 ensayos, registrándose 3 días a una demora de 2s y los 3 siguientes ante una demora de 2 y 3s aleatorios en la presentación del estímulo. El número de cruces antes de presentarse el sonido (comisiones) fue considerado un signo de mayor

impulsividad. Como puede apreciarse, esta prueba también tiene un componente de atención importante, ya que el sujeto tiene que detectar la presencia de la serie de estímulos auditivos.

En esta prueba se consideraron las siguientes medidas:

- a. **Acierto:** cuando la rata abandonó la plataforma después de la emisión del sonido en un tiempo no mayor a 200 cs (centésimas de segundo).
- b. **Omisión:** cuando la rata no abandonó la plataforma después de haber transcurrido 200 cs posteriores a la conclusión del sonido (inatención).
- c. **Comisión:** cuando la rata abandonó la plataforma antes de la presencia del estímulo auditivo (impulsividad).
- d. **Tiempo de reacción.**

Transcurridas 24 horas de la última dosis de MP (40 EPN) la mitad de los sujetos de cada grupo se sacrificaron por la técnica de dislocación cervical. Se extrajo el cerebro almacenándolo a -80° C con nitrógeno líquido para su posterior detección de DA y NA en NAc y CPFm por HPLC. La mitad de animales restantes se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio con un restablecimiento del alimento *ad libitum* hasta la edad adulta (75 EPN), cuando se analizó la impulsividad nuevamente en ellos.

Control Inhibitorio de Tipo Cognitivo o de Elección.

El control inhibitorio cognitivo se registró por medio de la devaluación del reforzador por demora en su presentación, la cual se ha definido anteriormente como la elección entre una recompensa pequeña e inmediata respecto a una mayor pero con un retraso significativo en su presentación. Cuando un sujeto elige la recompensa inmediata (pequeña) se considera más impulsivo que aquel que selecciona un reforzador mayor con retraso en su acceso, ya que no es capaz de tolerar la espera del reforzamiento y responde sin hacer la valoración de las opciones que se le presentan. La IC se evaluó en este experimento por medio del paradigma de *delay-discounting* utilizando un puente de transición (Anexo 3). Este dispositivo fue desarrollado en el laboratorio de farmacología y conducta del Instituto de Neurociencias y está diseñado para medir las latencias de elección ante dos opciones con distintos tiempos de presentación del reforzador al cruzar los puentes, (ver Figura 11). Esta prueba evalúa la impulsividad cognitiva con pocos días

de entrenamiento lo cual es útil para registrar ratas antes de la pubertad (entre el día 38 y 40 EPN).

PRIVACIÓN DE ALIMENTO PREVIO A LA PRUEBA: El período de privación de alimento comenzó a las 20:00 hrs del día 25 EPN hasta las 10:00 hrs. del día siguiente (26 EPN) cuando los sujetos fueron abastecidos con pellas de 45 mg cada una para hacer un total de 900 mg/sujeto (20 pellas/sujeto). Una vez consumido se les abasteció con alimento estándar 5 g/sujeto, transcurridas 2 horas. Al día siguiente se inicio la fase de moldeamiento sin interrumpir el protocolo de privación de alimento el cual se mantuvo hasta la conclusión de la prueba conductual. Se tuvo cuidado en que los animales no pesen menos del 80% de su peso normal tanto en las ratas prepúberes como en las adultas.

MOLDEAMIENTO: La etapa de moldeamiento constó de dos fases entre los días 29 y 33 EPN.

Primera fase: Se colocó a la rata en el centro de las plataformas A y C del puente de transición con un puente de 3 cm. Se moldearon los sujetos por aproximaciones sucesivas hasta que el sujeto aprendió que existía un reforzador (1 pella de 45 mg) en cada una de las plataformas meta, B ó D, después de cruzar el puente gris o negro respectivamente (ver Figura 11). Se consideró que el sujeto aprendió la prueba cuando completó 20 cruces sucesivos en dos días consecutivos (29 y 30 EPN), sin preferencia por alguno de los puentes (60 a 40 \pm 5%). Cada día de moldeamiento, los sujetos continuaron bajo condiciones de privación con un abastecimiento de 4 g/sujeto de pellets estándar, los cuales fueron colocados entre 1.5 y 2 horas posteriores a la finalización de la prueba de cada día, aumentando 1g/sujeto cada tercer día. Una vez cumplido el criterio de adquisición, los sujetos siguieron bajo la condición de privación antes descrita.

Segunda fase: Consistió en el inicio de la demora del reforzador (5s) para el puente negro (izquierdo) con la habituación a la emisión de sonido de 4Khz y 5000 ms (milisegundos) de duración al momento de abastecer 2 pellas de 45 mg al final del puente, en la plataforma B (derecha), se dio el refuerzo inmediato con el mismo sonido a los 300ms (milisegundos) de que la rata piso la plataforma. Se realizaron 40 ensayos para cada sujeto. Esta fase del moldeamiento de la conducta se hizo en dos días consecutivos correspondientes a 32 y 33 EPN.

PRUEBA CONDUCTUAL: Esta fase se registró a la par del tratamiento postnatal con MP ip (3mg/Kg BW) o SS ip.

DEMORA DEL REFORZADOR 7s: Para esta demora en el reforzador se realizaron 40 ensayos en cada sujeto durante 3 días consecutivos (34, 35 y 36 EPN). La demora en el reforzador se presentó siempre al final del puente negro (izquierdo) con las mismas características de emisión de sonido que en los días anteriores y con el mismo refuerzo de 2 pellas de 45 mg/sujeto.

DEMORA DEL REFORZADOR 10s: Para esta demora en el reforzador se realizaron 40 ensayos en cada sujeto durante 3 días consecutivos (37, 38 y 39 EPN). El procedimiento fue igual que el descrito anteriormente, solo aumentando la demora del reforzador siempre en el puente negro, (izquierda) a 10s y manteniendo el puente gris (derecho) con el refuerzo inmediato.

4. Crías adultas

La mitad de ratas que se preservaron hasta edad adulta se sometieron nuevamente a las pruebas para medir impulsividad (78 a 89 EPN), al día siguiente de la última medición fueron sacrificados por dislocación cervical (90 EPN), extrayéndose su cerebro y congelándolo a -80°C con nitrógeno líquido hasta el momento de la cuantificación de DA y NA por HPLC.

El calendario experimental se muestra en la Figura 12 y el diagrama de flujo del diseño experimental en la Figura 13.

5. Análisis de catecolaminas

Tras la extracción del cerebro y su congelación hasta -80° C con nitrógeno líquido, los cerebros permanecieron a esta temperatura hasta el momento de la cuantificación de neurotransmisores por HPLC utilizando una fase móvil de ácido heptasulfónico (KH₂PO₄) 0.025 M en agua (pH=3) + acetonitrilo 0.3 mM y una columna para la detección de catecolaminas (4.6 x 75 mm Zorbax SB-C18, 3.5 µm).

La técnica para la preparación de los homogénados así como las coordenadas de las diferentes estructuras se describe en el Anexo 4.

Calendario de Pruebas Conductuales

EPN	Destete	Destete
21	Moldeamiento IC (Infantil)	Moldeamiento IM (Infantil)
25-26-27-28-29-31	Prueba con demora de 5s	Demora 1s Fijo
32-33	Prueba con demora de 7s	Adquisición de criterio a 2s
34-36	Prueba con demora de 10s	Demora de 2s
37-39	Sacrificio (Infantil)	Demora 2-3 segundos (aleatoria)
40		Sacrificio (Infantil)
77-79	Moldeamiento IC (Adulta)	Moldeamiento IM (Adulta)
80-81-82-83	Prueba con demora de 5s	Adquisición de criterio a 2s
84-86	Prueba con demora de 7s	Demora de 2s
87-89	Prueba con demora de 10s	Demora 2-3 segundos (aleatoria)
90	Sacrificio (Adultas)	Sacrificio (Adultas)

Figura 12. Calendario de pruebas; **IM:** Impulsividad motora, **IC:** Impulsividad cognitiva, **EPN:** Edad postnatal, s: Segundos. El tratamiento prenatal de alcohol se dio del día 8 a 20 de gestación, el tratamiento postnatal con metilfenidato (3 mg/Kg BW) se administró entre los días 34 a 39. El sacrificio en edad prepúber fue el día 40 y para adultas el 90 (EPN).

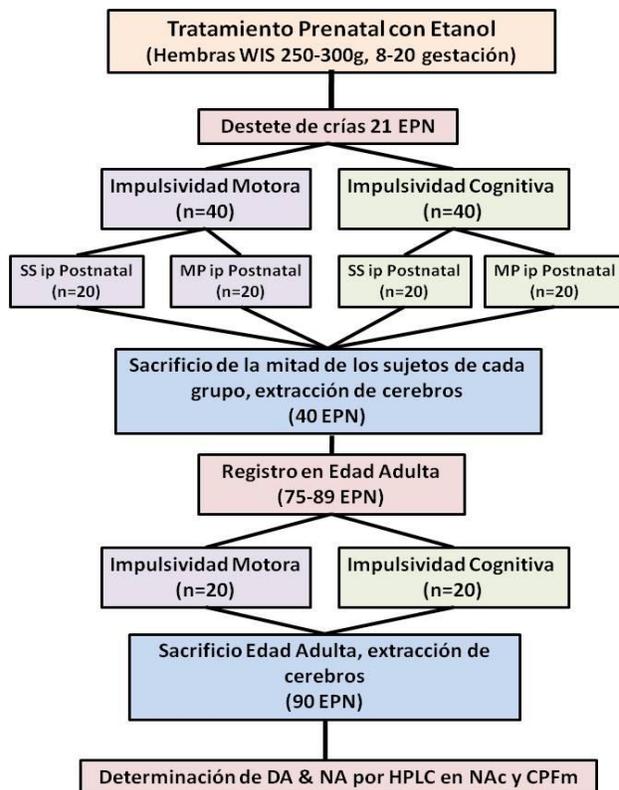


Figura 13. Diagrama de flujo experimental. **WIS:** Wistar; **EPN:** Edad Postnatal; **MP:** Metilfenidato; **SS:** Solución salina; **ip:** Intraperitoneal; **HPLC:** High-performance liquid chromatography.

VARIABLES

INDEPENDIENTES

1. Tratamiento prenatal con alcohol con y sin tratamiento de MP en la pre-pubertad
2. Edad post-natal (prepuberes y adultos).

DEPENDIENTES

1. Control inhibitorio motor y cognitivo.
2. Concentración de dopamina en núcleo accumbens y corteza prefrontal medial.
3. Concentración de noradrenalina en núcleo accumbens y corteza prefrontal medial.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el control inhibitorio motor se realizó un diseño mixto de parcelas divididas (p.q), para los parámetros conductuales y un análisis de varianza (ANDEVA) para grupos independientes para analizar el efecto de la edad, para el control inhibitorio cognitivo se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para grupos independientes. En el caso de los niveles de DA y NA en NAc y CPFm se realizó un ANDEVA de grupos independientes, para el factor edad y tratamiento postnatal.

Para los análisis a posteriori se utilizó la prueba de Tukey, tomando en cuenta un nivel de significación de $p \leq 0.05$, en todos los casos.

RESULTADOS

A continuación se describirán los resultados conductuales de las pruebas de **Control Inhibitorio Reactivo o Motor** (IM) para las ratas con tratamiento postnatal de SS y MP (3mg/Kg ip) en edad prepúber (n=21 & 14) y en edad adulta (n=8 & 9) y de **Control Inhibitorio Cognitivo** (IC) con tratamiento postnatal de SS y MP tanto en edad prepúber (n=20) como en la adulta (n=10).

EVALUACIÓN DEL CONTROL INHIBITORIO MOTOR O REACTIVO

Tratamiento Postnatal: Edad Prepúber.

El control inhibitorio de tipo motor o reactivo se puede definir como la falta de inhibición ante una conducta preponderante. En este estudio se evaluó por medio de una prueba de inhibición de una conducta ante estímulos auditivos.

La prueba se realizó del día 34 al 39 de EPN. El criterio de adquisición para la prueba de IM fue de 32 aciertos por sesión (cada sesión constó de 60 ensayos), de esta manera se comenzó a registrar la conducta a partir de que el sujeto experimental realizó 32 aciertos en una sesión.

Se utilizó un diseño mixto de dos factores p.q (tratamiento postnatal x parámetros conductuales), para analizar el efecto del MP sobre los aciertos, comisiones y omisiones ante un retraso de 2s y 2- 3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo.

El tratamiento postnatal con MP no tuvo efecto significativo durante la edad prepúber en ninguna de las dos condiciones de demora y en ninguno de los parámetros conductuales; es decir, aciertos, comisiones & omisiones, mientras que el factor que analiza estos parámetros conductuales fue significativo con la demora de 2s ($F_{(2,206)}=264.7$, $p<0.0001$) y 2-3s ($F_{(2,128)}=463.37$, $p<0.0001$); la prueba a posteriori indicó que los aciertos fueron mayores a las comisiones y a las omisiones, y las comisiones fueron mayores a las omisiones para ambas demoras (2 y 2-3s). Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 14-a y b).

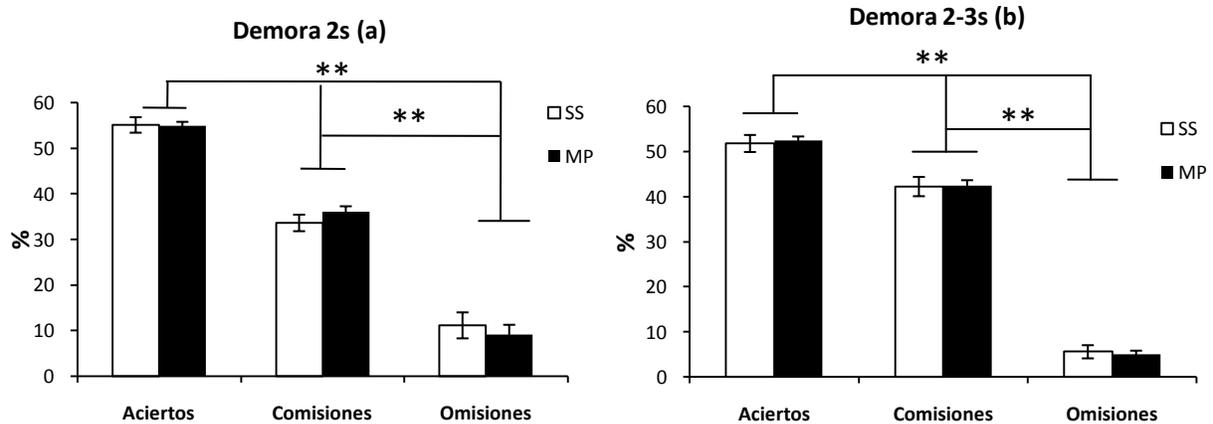


Figura 14. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS, n=14) y con metilfenidato en edad prepúber (MP, n=21). Acertios, comisiones & omisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. Acertios>Comisiones & Omisiones; Comisiones>Omisiones (**), $p < 0.0001$ (a & b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para analizar el tiempo de reacción (TR) en los aciertos y comisiones, se realizó un diseño mixto de dos factores p.q (tratamiento postnatal x parámetros conductuales), para evaluar el efecto del MP, ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. Ante una demora de 2s las ratas tratadas con MP tuvieron tiempos mayores respecto a sus controles ($F_{(1,52)}=6.98, p < 0.05$) independientemente de si el parámetro fue un acierto o comisión, y los tiempos de reacción ante los aciertos fueron menores respecto a las comisiones ($F_{(1,52)}=26.4, p < 0.0001$) independientemente del tratamiento. Cuando la presentación del estímulo auditivo fue aleatoria (2-3 s), las ratas con MP presentaron tiempos de reacción menores que sus controles ($F_{(1,52)}=9.06, p < 0.005$), para el factor b (tipo de respuesta), los tiempos de reacción en las comisiones fueron mayores que para los aciertos ($F_{(1,52)}=156.44, p < 0.0001$), además la interacción fue significativa entre el tratamiento postnatal y los parámetros conductuales ($F_{(1,52)}=5.66, p < 0.05$), la prueba a posteriori indicó que el TR fue significativamente menor en el grupo de MP con respecto al grupo SS sólo en las comisiones y no para los aciertos. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 15-a y b).

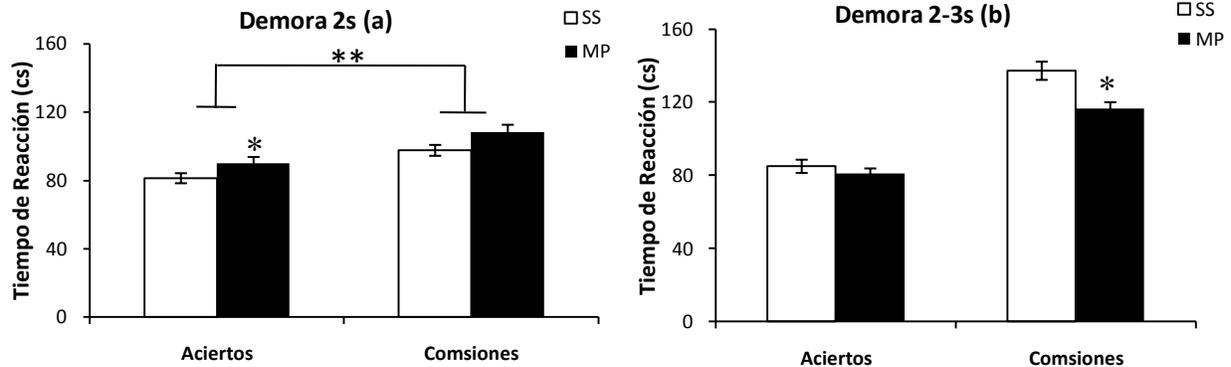


Figura 15. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS, n=9) y con metilfenidato en edad prepúber (MP, n=9). Tiempo de reacción para aciertos y comisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. $MP > SS$, $p < 0.01$ & $Comisiones > Aciertos$, $p < 0.0001$ (a) y $MP < SS$, $p < 0.005$ e Interacción entre tratamiento postnatal y parámetro conductual, $p < 0.05$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Edad Adulta

El día 40 (± 1) de EPN terminó la privación alimentaria. Las ratas permanecieron en su caja habitación hasta el día 80 EPN sin manipulación alguna, únicamente se pesaron periódicamente. La IM se evaluó nuevamente del día 84 al 89 de EPN.

Se utilizó un diseño mixto de dos factores p.q (tratamiento postnatal x parámetros conductuales), para analizar el efecto del MP sobre los aciertos, comisiones y omisiones ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. El tratamiento postnatal con MP no tuvo efecto durante la edad adulta para los aciertos, comisiones u omisiones ante la demora de 2s, los parámetros conductuales fueron diferentes ($F_{(2,98)}=28.03$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que los aciertos y las omisiones fueron mayores a las comisiones, además la interacción entre factores fue significativa ($F_{(2,98)}=3.71$, $p < 0.05$), la prueba a posteriori indicó que las omisiones fueron mayores que las comisiones y los aciertos en el grupo control, los aciertos fueron mayores que las comisiones para el grupo control y los aciertos fueron mayores que las omisiones en el grupo MP y las omisiones fueron mayores que las comisiones para el grupo MP. Para la demora de 2-3s, los parámetros conductuales fueron diferentes ($F_{(2,60)}=20.83$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las omisiones fueron mayores a las comisiones y los aciertos y los aciertos fueron mayores a las comisiones, también la interacción entre factores fue significativa ($F_{(2,60)}=5.85$, $p < 0.005$), la prueba a posteriori indicó que las omisiones fueron

mayores que las comisiones y los aciertos para el grupo control, los aciertos fue mayores que las comisiones para el grupo MP. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 16-a y b).

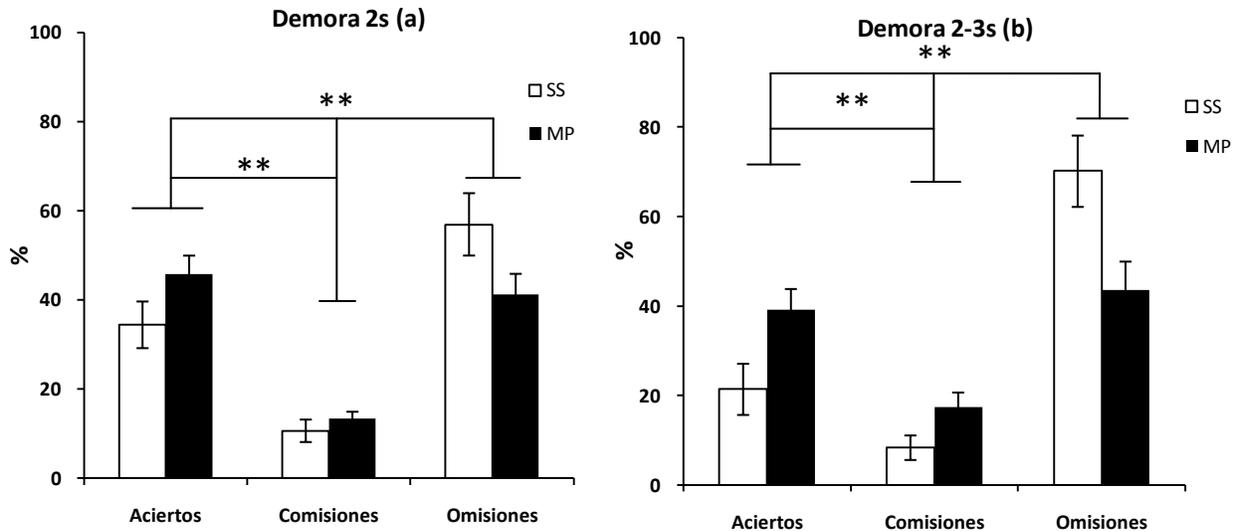


Figura 16. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad adulta (SS, n=8) y con metilfenidato en la prepúberdad en edad adulta (MP, n=9). Aciertos, Comisiones & Omisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. Omisiones > Comisiones & Aciertos > Comisiones, $p < 0.0001$ e Interacción significativa entre el tratamiento postnatal y los parámetros conductuales, $p < 0.05$ (a). Omisiones > Aciertos & Comisiones & Aciertos > Comisiones, $p < 0.0001$ e Interacción significativa entre el tratamiento postnatal y los parámetros conductuales, $p < 0.005$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para analizar el tiempo de reacción (TR) en los aciertos y comisiones, se realizó un diseño mixto de dos factores p.q (tratamiento postnatal x parámetros conductuales), para evaluar el efecto del MP, ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. Ante una demora de 2s las ratas tratadas con MP tuvieron tiempos mayores respecto a sus controles ($F_{(1,46)}=938.5$, $p < 0.0001$) además la interacción fue significativa entre el tratamiento postnatal y los parámetros conductuales ($F_{(1,46)}=8.56$, $p < 0.05$), la prueba a posteriori indicó que los TR para las comisiones fueron mayores que los aciertos para el grupo MP y el TR en comisiones para el grupo MP fue mayor que el TR en comisiones del grupo control. Cuando la presentación del estímulo auditivo fue aleatoria, las ratas con MP presentaron tiempos de reacción menores que sus controles ($F_{(1,40)}=6.27$, $p < 0.005$), para los parámetros conductuales los tiempos de reacción en las comisiones fueron mayores que para los aciertos ($F_{(1,40)}=19.99$, $p = 0.0001$). Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 17-a y b).

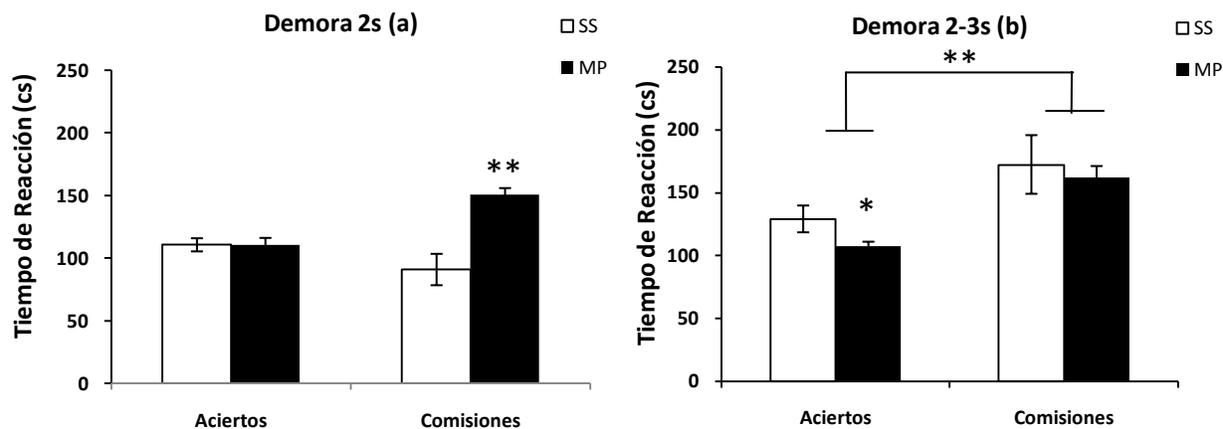


Figura 17. Ratas con tratamiento prenatal de etanol y postnatal de MP en edad adulta (SS, n=9) y con metilfenidato en edad adulta (MP, n=9). Tiempo de reacción para aciertos y comisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. $MP > SS$, $p < 0.0001$ e Interacción entre el tratamiento postnatal y los parámetros conductuales, $p < 0.05$ (a), $MP < SS$, $p < 0.05$ & comisiones > aciertos, $p = 0.0001$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Efecto de la Edad.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para grupos independientes de un factor (Grupos), para analizar el efecto de la edad sobre los aciertos ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. Para la demora de 2s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,152)}=10.86$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la prepúberdad tuvieron mayor número de aciertos respecto a su edad adulta y las ratas adultas tratadas con MP durante la prepúberdad tuvieron un número mayor de aciertos respecto a su control a la misma edad, para el retraso aleatorio se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,97)}=24.41$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la prepubertad tuvieron mayor número de aciertos respecto a su edad adulta, las ratas prepúberes tratadas con MP tuvieron un número mayor de aciertos respecto a su edad adulta y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron un número mayor de aciertos respecto a su control en la edad adulta. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 18-a y b).

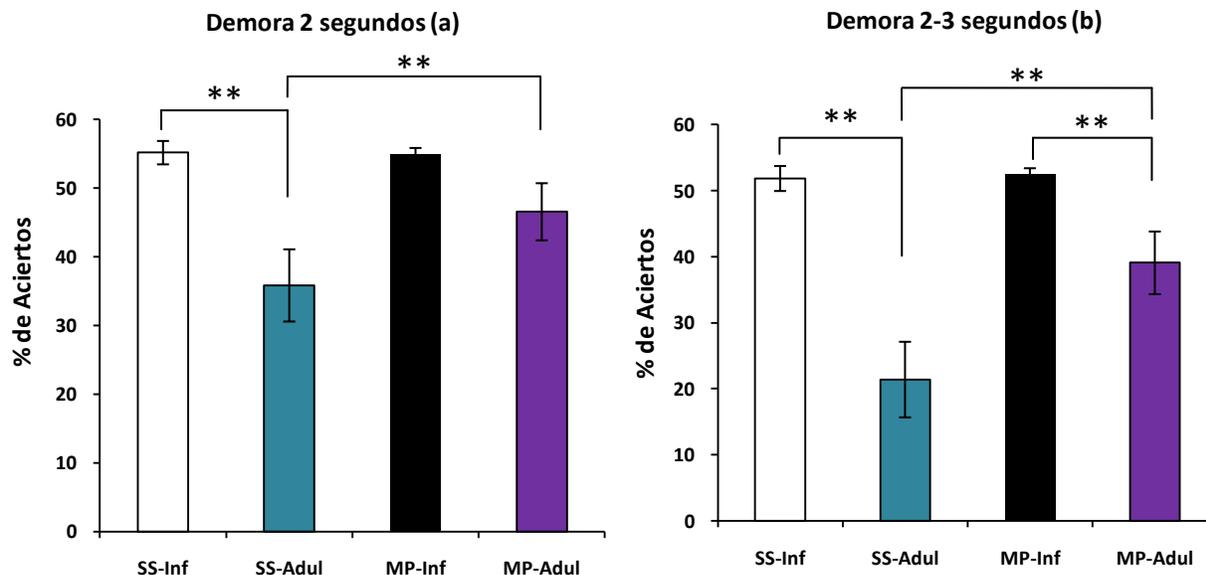


Figura 18. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=14) y adulta (SS-Adul, n=8) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=21) y adultas (MP-Adul, n=9). Aciertos ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. SS-Inf>SS-Adul & MP-Adul>SS-Adul, $p<0.0001$ (a) & SS-Inf>SS-Adul, MP-Inf>MP-Adul y MP-Adul>SS-Adul, $p<0.0001$ (b) para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para analizar el efecto de la edad sobre el número de comisiones (impulsividad) se realizó un ANDEVA para grupos independientes de un factor (Grupos), ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. Para el retraso fijo se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,152)}=57.42$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la prepubertad tuvieron mayor número de comisiones respecto a su edad adulta y las ratas prepúberes tratadas con MP tuvieron un número mayor de comisiones respecto a su edad adulta, de igual forma en el retraso aleatorio se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,94)}=64.814$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la prepubertad tuvieron mayor número de comisiones respecto a su edad adulta, las ratas prepúberes tratadas con MP tuvieron un número mayor de comisiones respecto a su edad adulta y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron un número mayor de comisiones respecto a su control en la edad adulta. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 19-a y b).

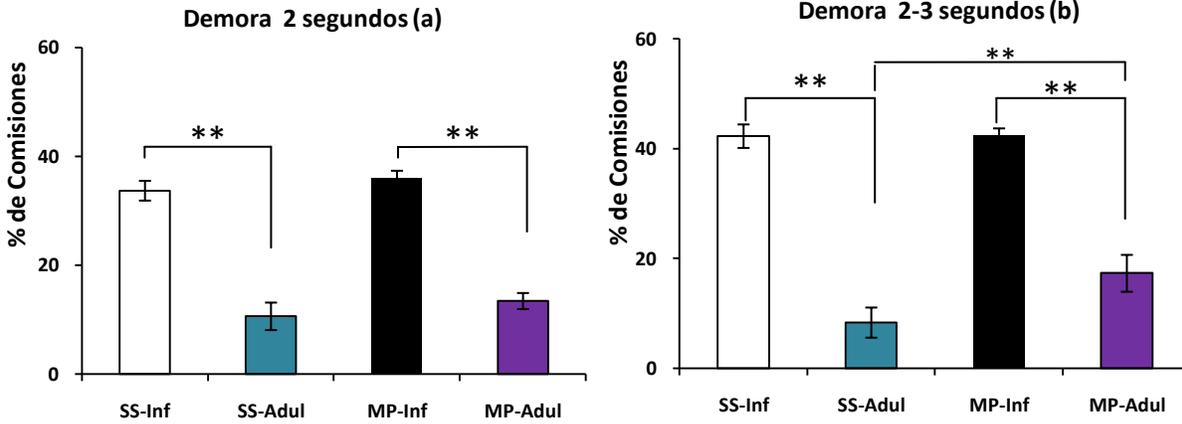


Figura 19. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=14) y adulta (SS-Adul, n=8) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=21) y adultas (MP-Adul, n=9). Comisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. SS-Inf>SS-Adul & MP-Inf>MP-Adul, $p<0.0001$ (a), SS-Inf>SS-Adul, MP-Inf>MP-Adul & MP-Adul>SS-Adul, $p<0.0001$ (b) para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para analizar el efecto de la edad sobre el número de omisiones, se realizó un ANDEVA para grupos independientes de un factor (Grupos), ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo. Para la demora de 2s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,152)}=39.11$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la edad adulta tuvieron mayor número de omisiones respecto a su edad prepúber y las ratas adultas tratadas con MP durante la prepubertad tuvieron un número mayor de omisiones respecto a su edad prepúber, además las ratas que no recibieron el MP en la infancia tuvieron un número mayor de omisiones (inatención) respecto al grupo MP, en la demora aleatorio se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,91)}=67.56$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la edad adulta tuvieron mayor número de omisiones respecto a su edad prepúber, las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron un número mayor de omisiones respecto a su edad prepúber y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron un número menor de omisiones respecto a su control en la edad adulta. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 20-a y b).

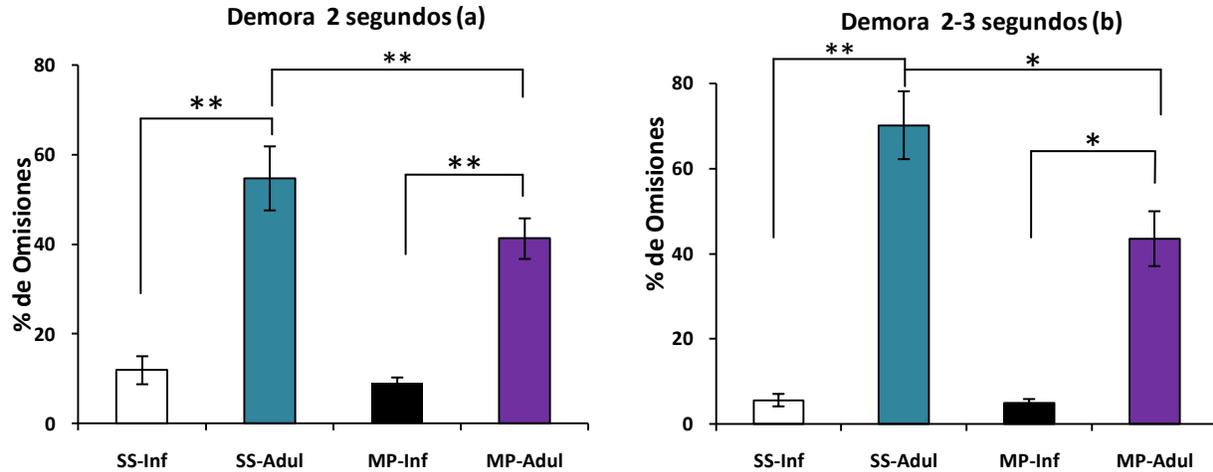


Figura 20. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=9) y adulta (SS-Adul, n=8) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=9) y adultas (MP-Adul, n=9). Comisiones ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. SS-Adul > SS Inf, MP-Adul > MP-Inf & SS-Adul > MP-Adul, $p < 0.0001$ (a y b), para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para analizar el efecto de la edad sobre el tiempo de reacción (TR) en los aciertos ante una demora de 2s y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo se realizó un ANDEVA de un factor (grupos). Para la demora de 2s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,101)}=10.24$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la edad adulta tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber y las ratas adultas tratadas con MP durante la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber, en la demora de 2-3s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,95)}=19.44$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control durante la edad adulta tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber, las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber y las ratas adultas tratadas sin tratamiento de MP en la prepubertad tuvieron TR mayores respecto al grupo MP en la edad adulta. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 21-a y b).

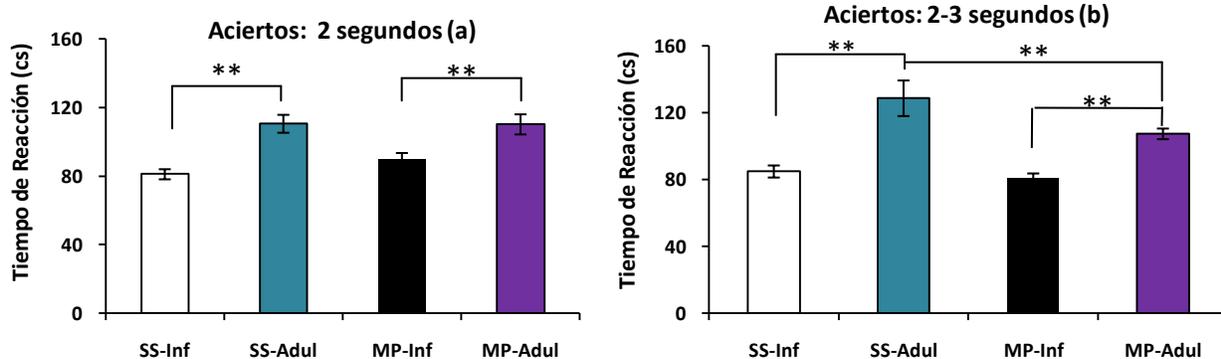


Figura 21. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=9) y adulta (SS-Adul, n=8) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=9) y adultas (MP-Adul, n=9). Tiempo de reacción (centésimas de segundo) para los aciertos ante una demora de 2 segundos (a) y de 2-3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. SS-Adul > SS-Inf y MP-Adul > MP-Inf, $p < 0.0001$ (a) & SS-Adul > SS-Inf, SS-Adul > MP-Adul & MP-Adul > MP-Inf, $p < 0.0001$ (b), para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

El efecto de la edad sobre el tiempo de reacción (TR) en comisiones ante un retraso de 2s (fijo) y 2-3s (aleatorios) en la presentación del estímulo auditivo se analizó por medio de un ANDEVA de un factor (grupos). Para la demora de 2s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,98)}=14.46$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas adultas tratadas con MP durante la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su control a en la edad adulta y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber, en la demora aleatoria se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,89)}=9.09$, $p < 0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas adultas tratadas sin tratamiento de MP durante la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su control a esta edad y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron TR mayores respecto a su edad prepúber. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 22-a y b).

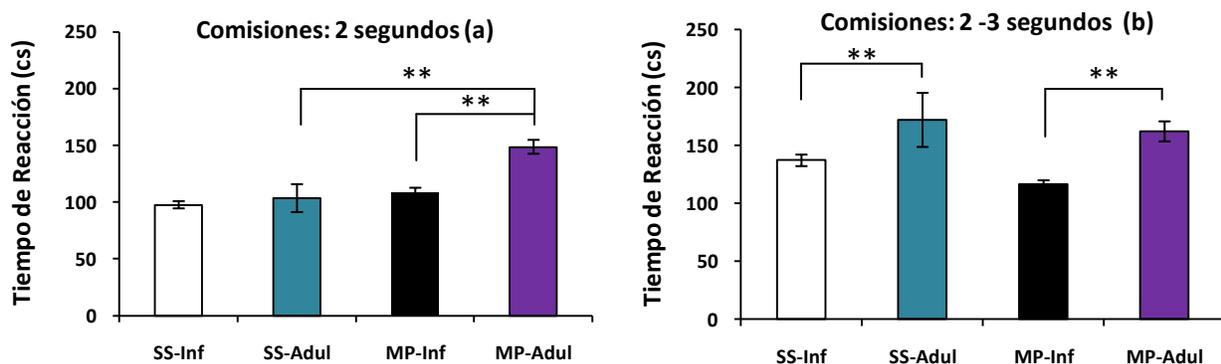


Figura 22. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=9) y adulta (SS-Adul, n=8) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=9) y adultas (MP-Adul, n=9). Tiempo de reacción (centésimas de segundo) para las comisiones ante una demora de 2 segundos fijo (a) y de 2 y 3 segundos aleatorios (b), en la presentación del estímulo auditivo. MP-Adul > SS-Adul y MP-Adul > MP-Inf, $p < 0.0001$ (a) y SS-Adul > SS-Inf & MP-Adul > MP-Inf, $p < 0.0001$ (b), para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

EVALUACIÓN DEL CONTROL INHIBITORIO DE TIPO COGNITIVO

El control inhibitorio de tipo cognitivo se registró por medio de la devaluación del reforzador por demora en su presentación, lo cual se ha definido anteriormente como la elección entre una recompensa pequeña e inmediata a una mayor pero con una demora significativa. Cuando un sujeto elige la recompensa inmediata (pequeña) se considera más impulsivo que aquel que selecciona un reforzador mayor aunque retrasado en su acceso, ya que no es capaz de tolerar la espera del reforzamiento y responde sin hacer la valoración de las opciones que se le presentan.

Tratamiento Postnatal: Edad Prepúber.

La prueba se realizó del día 34 al 39 de EPN. Se realizó un ANDEVA de un factor (grupos) para analizar el efecto del tratamiento postnatal sobre el porcentaje de elección del reforzador mayor pero con demora en su presentación. No se observaron diferencias en el tratamiento postnatal (MP) tanto para una demora de 7s como una de 10s en la elección del reforzador con demora (Figuras 23-a y b).

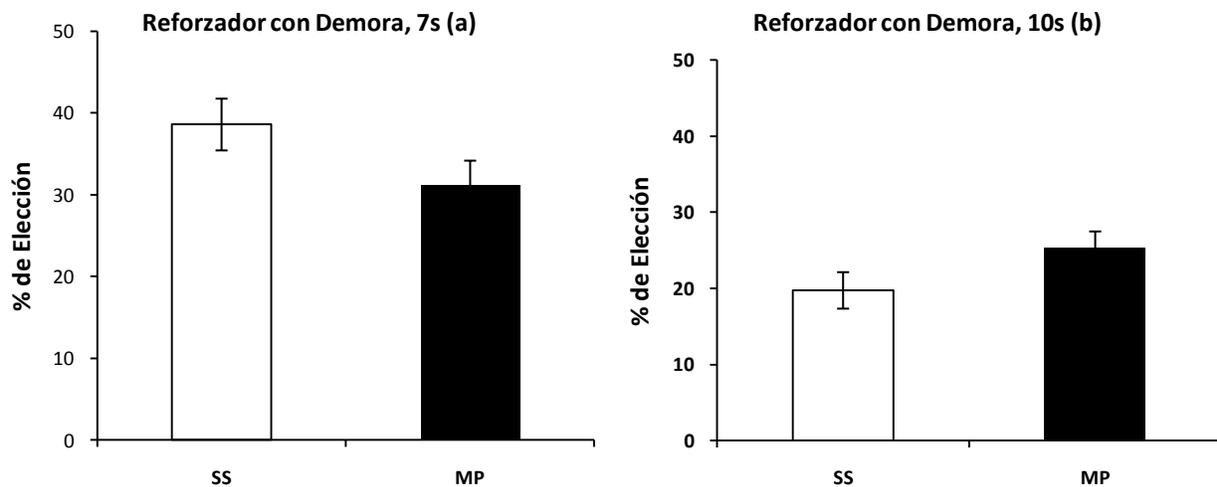


Figura 23. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS, n=20) y con metilfenidato en edad prepúber (MP, n=20). Elección del reforzador mayor ante una demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b), en su presentación. Las barras indican la media \pm E.E.M.

El tiempo de Toma de Decisión se analizó utilizando un ANDEVA de dos factores (tratamiento postnatal x plataforma), para la plataforma que correspondía al reforzador inmediato en su

presentación pero pequeño y el demorado pero mayor. No se observaron diferencias significativas entre grupos de diferente tratamiento postnatal para ambos retrasos aunque las ratas con MP presentaron una tendencia a tiempos de toma de decisión menores ante un retraso de 7s, para el retraso de 7s, el tiempo de toma de decisión fue mayor para la plataforma que correspondía al reforzador demorado respecto al inmediato ($F_{(1,116)}=17.09$, $p=0.0001$) y para el retraso de 10s también resultó significativa esta diferencia ($F_{(1,116)}=60.32$, $p<0.0001$) (Figuras 24-a y b).

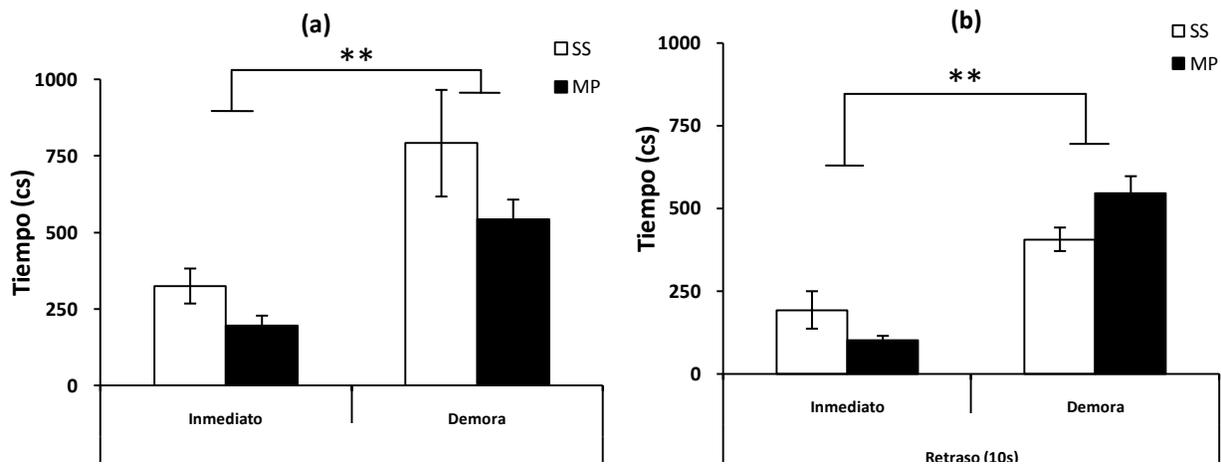


Figura 24. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS, n=10) y con metilfenidato en edad prepúber (MP, n=10). Tiempo de toma de decisión para el reforzador inmediato y al demorado ante un demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b), en su presentación. Demorado>Inmediato, $p=0.0001$ (a) y Demorado>Inmediato, $p<0.0001$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Edad Adulta

Al igual que en la Impulsividad motora (IM), el día 40 (± 1) de EPN terminó la privación alimentaria. Las ratas permanecieron en su caja habitación hasta el día 80 EPN sin manipulación alguna, únicamente pesándolas periódicamente. La IC se evaluó nuevamente del día 84 al 89 de EPN.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor (grupos) para analizar el efecto del tratamiento postnatal con MP sobre el porcentaje de elección del reforzador mayor pero con demora en su presentación. La prueba se realizó del día 84 al 89 de EPN. Para la demora de 7s, no se observaron diferencias en la elección del reforzador demorado en ambos grupos, mientras que cuando la demora fue de 10s las ratas tratadas con MP en la prepúber eligieron más el reforzador demorado respecto a su control ($F_{(1,58)}=4.98$, $p<0.05$) (Figuras 25-a y b).

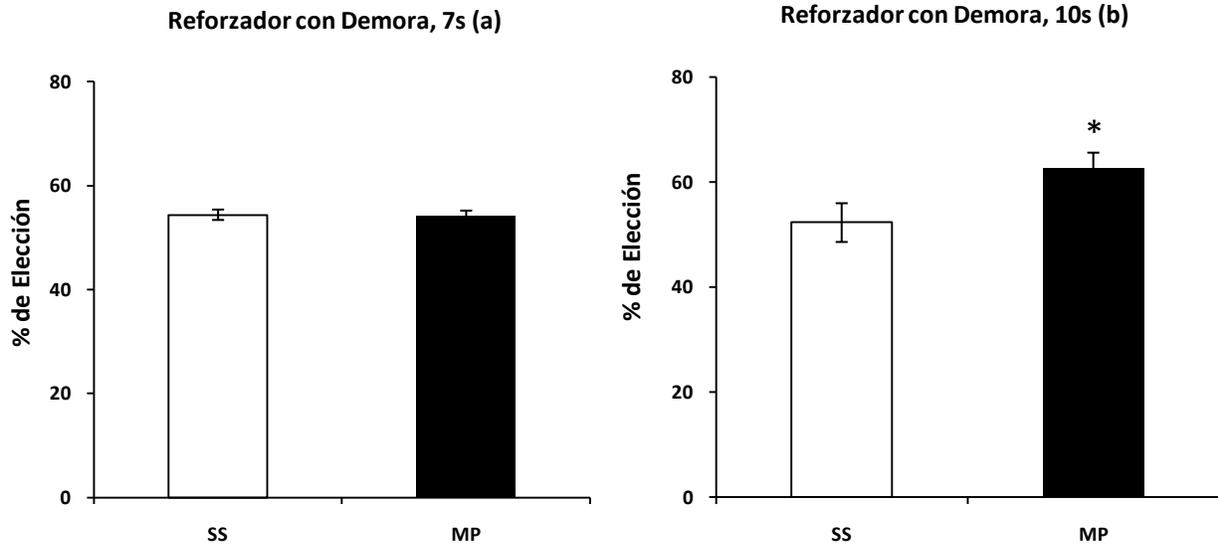


Figura 25. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad adulta (SS, n=10) y con metilfenidato postnatal en edad adulta (MP, n=10). Elección del reforzador mayor ante una demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b), en su presentación, MP>SS, $p<0.05$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M

El tiempo de Toma de Decisión se analizó utilizando un ANDEVA de dos factores (tratamiento postnatalx plataforma), para la plataforma que correspondía al reforzador inmediato en su presentación pero pequeño y el demorado pero mayor. Ante la demora de 7s, no se observó efecto del tratamiento postnatal con MP, resultando significativo el tiempo de toma de decisión para las plataformas, el tiempo para la plataforma que correspondía al reforzador demorado fue mayor respecto a la del inmediato ($F_{(1,116)}=7.02$, $p<0.05$), para la demora de 10s, las ratas tratadas con MP en la prepubertad tuvieron tiempos mayores respecto a sus controles ($F_{(1,116)}=12.92$, $p<0.0001$) y de igual forma el tiempo para la plataforma que correspondía al reforzador demorado fue mayor respecto a la del inmediato ($F_{(1,116)}=12.92$, $p<0.001$). (Figuras 26-a y b).

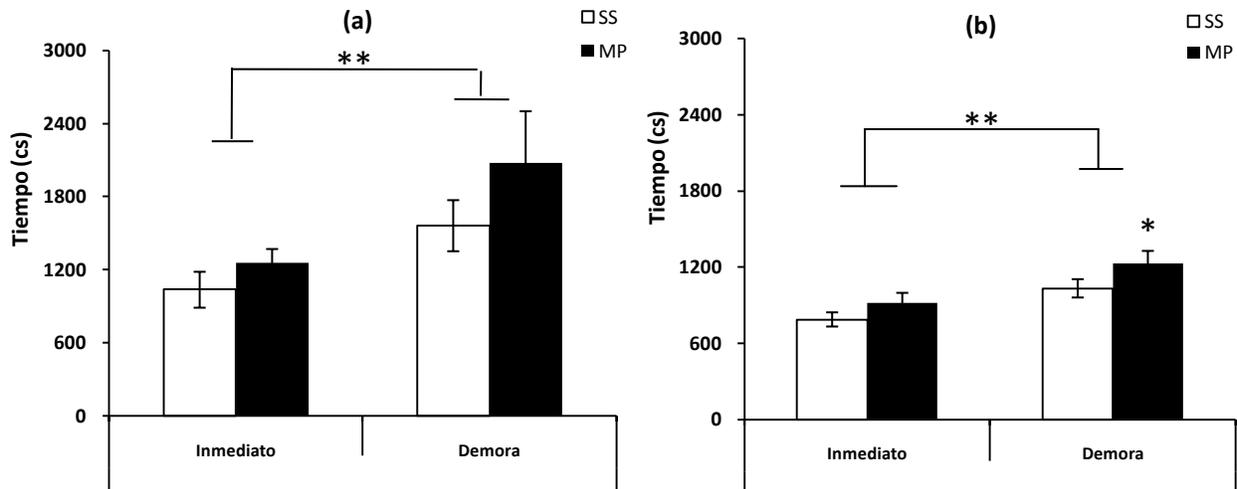


Figura 26. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad adulta (SS, n=10) y con metilfenidato postnatal en edad adulta (MP, n=10). Tiempo de Toma de decisión para el reforzador inmediato y al demorado ante una demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b), en su presentación. Demorado>Inmediato, $p<0.0001$ (a). $MP>SS$, $p<0.05$ y Demorado>Inmediato, $p<0.001$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Efecto de la Edad

Se realizó un ANDEVA para grupos independientes de un factor (Grupos), para analizar el efecto de la edad sobre la elección del reforzador con demora en su presentación para ambos valores (7 & 10s). Para el retraso de 7s se observaron diferencias entre grupos ($F_{(3,116)}=11.58$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control en edad adulta eligieron más el reforzador demorado respecto a su edad prepúber al igual que las ratas adultas que fueron tratadas postnatalmente con MP en la prepubertad eligieron más el reforzador demorado respecto a su edad prepúber y las ratas adultas tratadas con MP en la prepubertad eligieron más el reforzador demorado respecto a su control a esa edad. Cuando la demora fue de 10s, los grupos también fueron diferentes ($F_{(3,116)}=53.42$, $p<0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas control en edad adulta eligieron más el reforzador demorado respecto a su edad prepúber al igual que las ratas adultas que fueron tratadas postnatalmente con MP en la prepubertad eligieron más el reforzador demorado respecto a su edad prepúber. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 27-a y b).

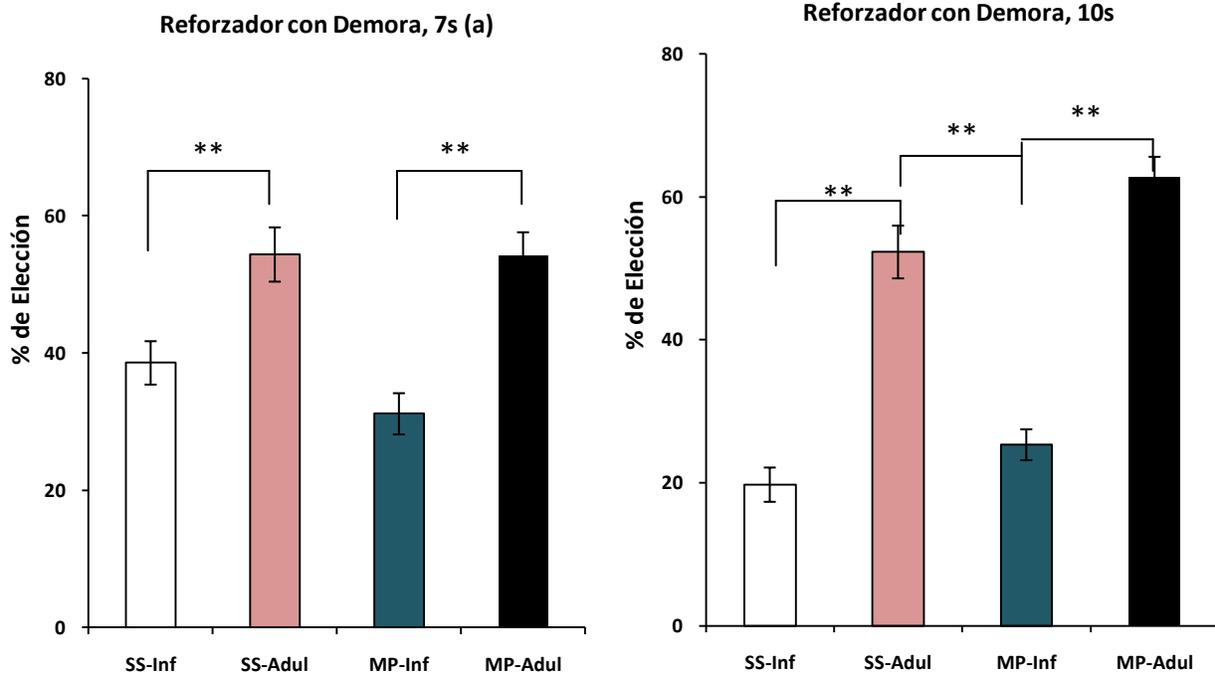


Figura 27. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=20) y adulta (SS-Adul, n=10) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=20) y adultas (MP-Adul, n=10). Elección del reforzador mayor ante una demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b) en su presentación. SS-Adul>SS-Inf y MP-Adul>MP-Inf, $p<0.0001$ (a) y SS-Adul>SS-Inf, MP-Adul>MP-Inf y MP-Adul>SS-Adul, $p<0.0001$ (b), para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para el tiempo de toma de decisión se realizó un ANDEVA de un factor (grupos), para la plataforma que correspondía al reforzador mayor pero con demora en su presentación (7 & 10s), ante una demora de 7s se observaron diferencias significativas entre grupos ($F_{(3,118)}=7.7$, $p=0.0001$), la prueba a posteriori indicó que las ratas adultas tratadas con MP postnatalmente tuvieron tiempos mayores respecto a su edad prepúber, para la demora de 10s, también hubo diferencias entre grupos ($F_{(3,118)}=32.97$, $p=0.0001$), la prueba a posteriori indicó las ratas adultas tratadas con MP postnatalmente tuvieron tiempos mayores respecto a su edad prepúber, al igual que las ratas adultas control tuvieron tiempos menores que en su edad prepúber. Las comparaciones fueron hechas con Tukey al 5% (Figuras 28-a y b).

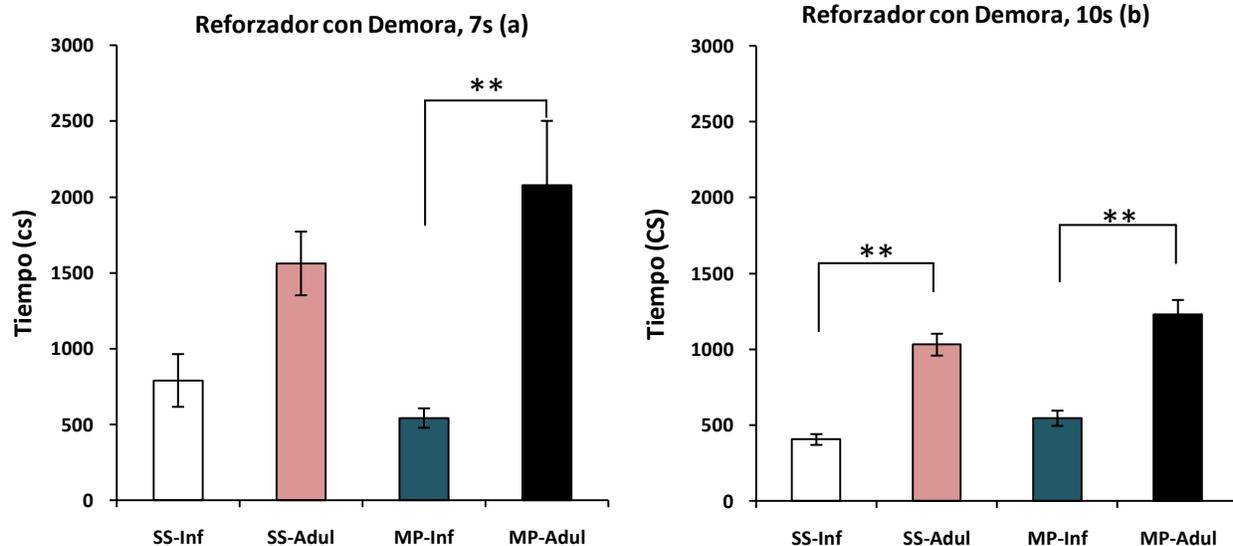


Figura 28. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber (SS-Inf, n=10) y adulta (SS-Adul, n=10) con metilfenidato en edad prepúber (MP-Inf, n=10) y adultas (MP-Adul, n=10). Tiempo de toma de decisión para plataforma que correspondía al reforzador mayor ante una demora de 7 segundos (a) y de 10 segundos (b), en su presentación MP-Adul>MP-Inf, $p=0.0001$ (a) y MP-Adul>MP-Inf & SS-Adul>SS-Inf, $p=0.0001$ (b), para Tukey al 5%. Las barras indican la media \pm E.E.M.

ANÁLISIS DE CATECOLAMINAS

Los niveles de DA y NA se analizaron por medio de HPLC tanto en cerebros en edad prepúber como en edad adulta, para las ratas con tratamiento postnatal de SS y MP (3mg/Kg ip, $34-39 \pm 1$ EPN), n=16.

Edad Prepúber.

Para analizar el efecto del tratamiento postnatal con MP (3mg/kg BW ip) en las ratas en edad prepúber sobre los niveles de dopamina se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para un factor (Tratamiento Postnatal), tanto para el núcleo accumbens como para la corteza prefrontal medial, no se observaron diferencias en los niveles de DA entre las ratas tratadas postnatalmente con MP y su control para ambas estructuras. Para el NAc no se observaron diferencias por el tratamiento postnatal (Figura 29).

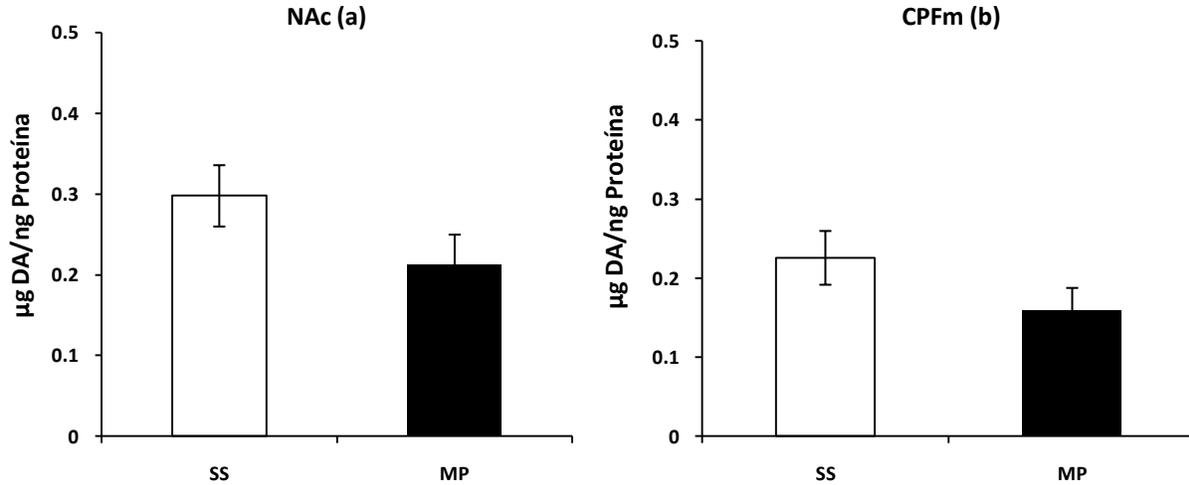


Figura 29. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina ($n=16$). Niveles de dopamina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial. Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para el efecto del tratamiento postnatal con MP en las ratas en edad prepúber sobre los niveles de noradrenalina se realizó un ANDEVA para un factor (Tratamiento Postnatal), tanto para el núcleo accumbens como para la corteza prefrontal medial, en NAc no se observaron diferencias en los niveles de neurotransmisor entre grupos y para la CPFm las ratas tratadas con MP tuvieron niveles de NA mayores respecto a su control ($F_{(1,30)}=4.79$, $p<0.05$) Figura 30.

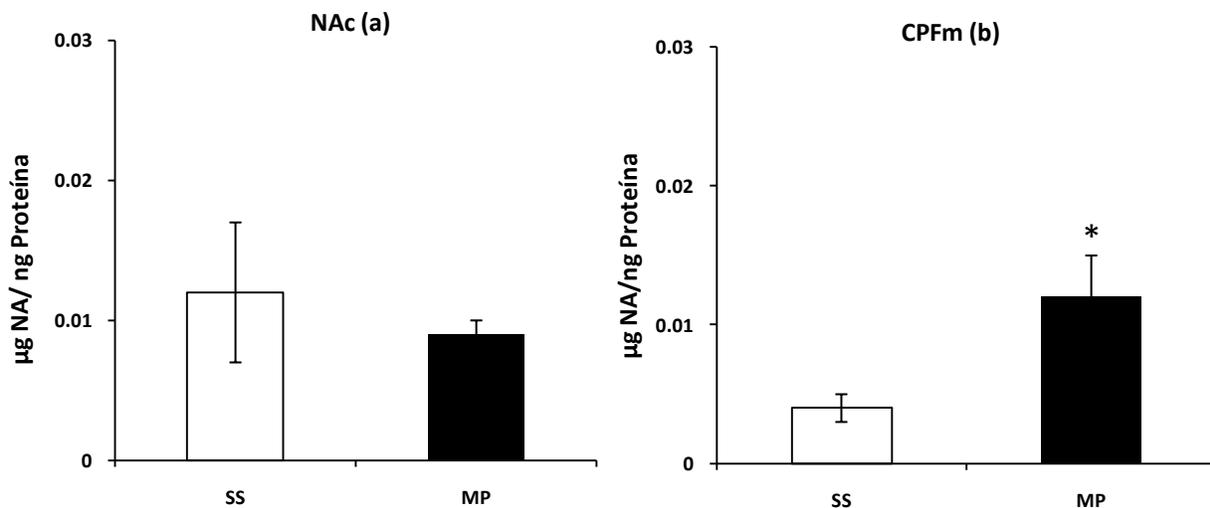


Figura 30. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina ($n=16$). Niveles de noradrenalina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial (b), $MP>SS$, $p<0.05$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Edad Adulta.

Para analizar el efecto del tratamiento postnatal con MP(3mg/kg BW ip) en las ratas en edad adulta sobre los niveles de dopamina se realizó un ANDEVA de un factor (tratamiento postnatal), no se observaron diferencias entre grupos tanto para el núcleo accumbens como para la corteza prefrontal medial, pero en esta última el grupo tratado en la prepubertad con MP tuvo una tendencia a niveles de DA mayores sin resultar significativa. Figura 31.

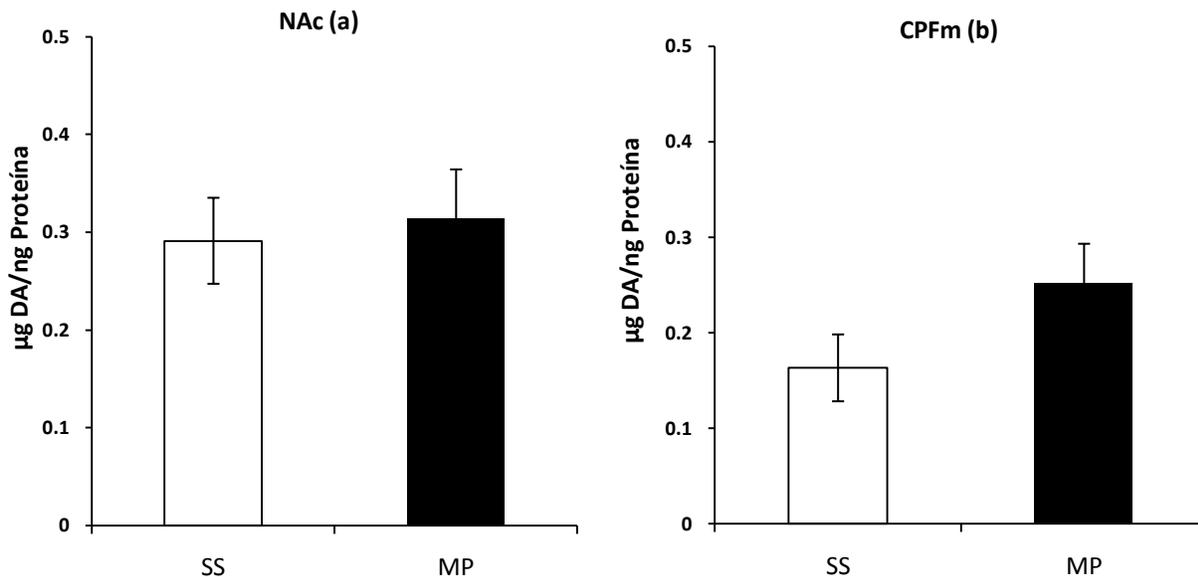


Figura 31. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad adulta con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina ($n=16$). Niveles de dopamina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Para el efecto del tratamiento postnatal con MP en edad adulta sobre los niveles de noradrenalina se realizó un ANDEVA para un factor (Tratamiento Postnatal), tanto para el núcleo accumbens como para la corteza prefrontal medial, el tratamiento en la prepubertad con MP no tuvo efecto sobre los niveles de NA para ambas estructuras en las ratas en edad adulta. Figura 32.

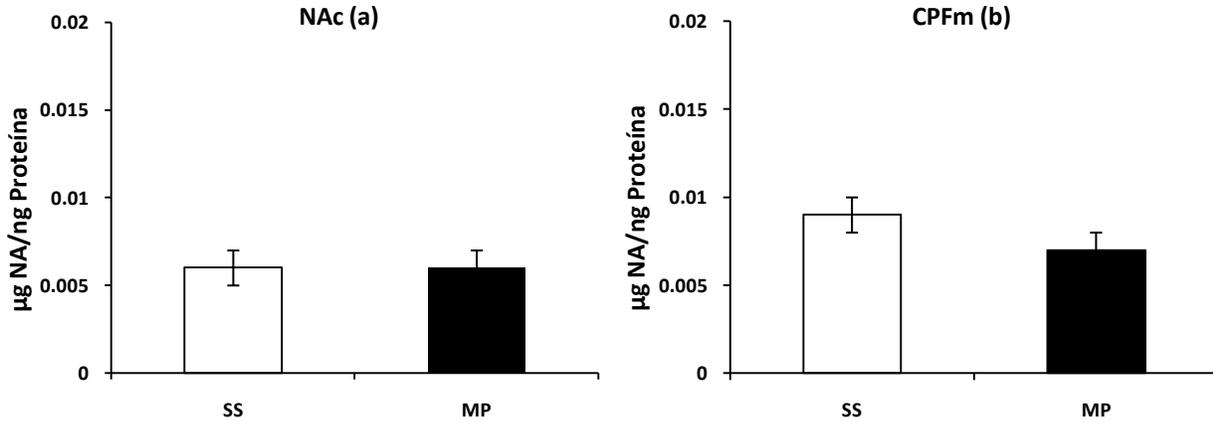


Figura 32. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad adulta con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina (n=16). Niveles de dopamina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Efecto de la edad.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores para grupos independientes (tratamiento postnatal x edad) para analizar el efecto del tratamiento postnatal en los niveles de DA respecto a la edad, no se observaron diferencias significativas en el NAc para ambos grupos, mientras que en CPFm fue significativa la interacción entre el tratamiento postnatal y la edad ($F_{(1,60)}=4.03$, $p<0.05$, Figura 33).

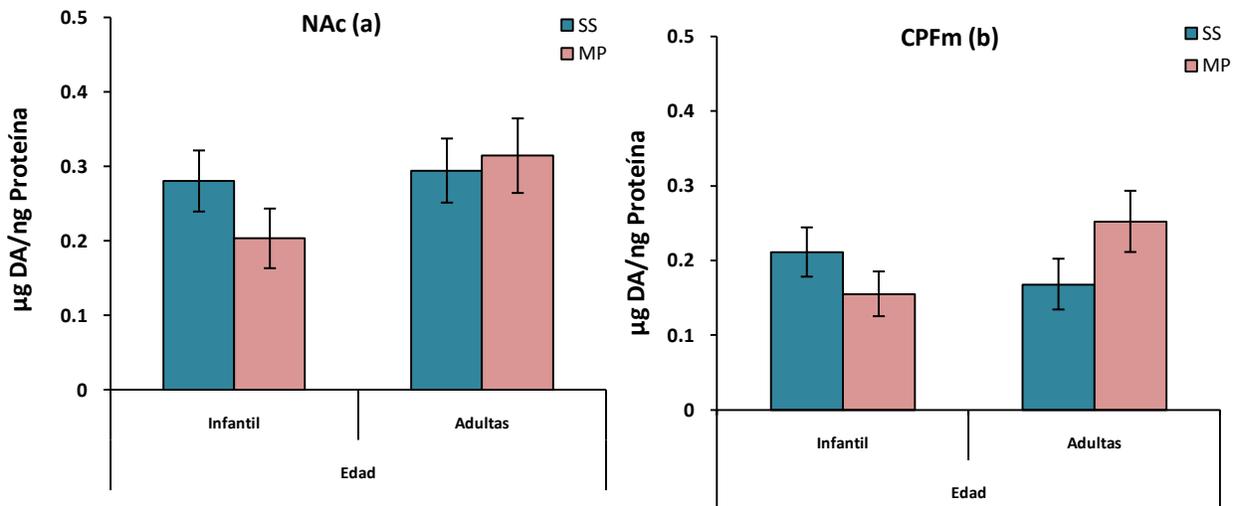


Figura 33. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber y con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina prepúberes (n=16) y en edad adulta (n=16). Niveles de dopamina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial (b), Interacción entre el tratamiento postnatal y la edad, $p<0.05$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores para grupos independientes (tratamiento postnatal x edad) para analizar el efecto del tratamiento postnatal en los niveles de NA respecto a la edad, no se observaron diferencias entre grupos para el NAc, en CPFm las ratas tratadas en la prepubertad tuvieron niveles de NA mayores respecto a su control ($F_{(1,60)}=4.15$, $p<0.05$), además resultó significativa la interacción entre el tratamiento postnatal y la edad ($F_{(1,60)}=4.84$, $p<0.05$, Figura 34).

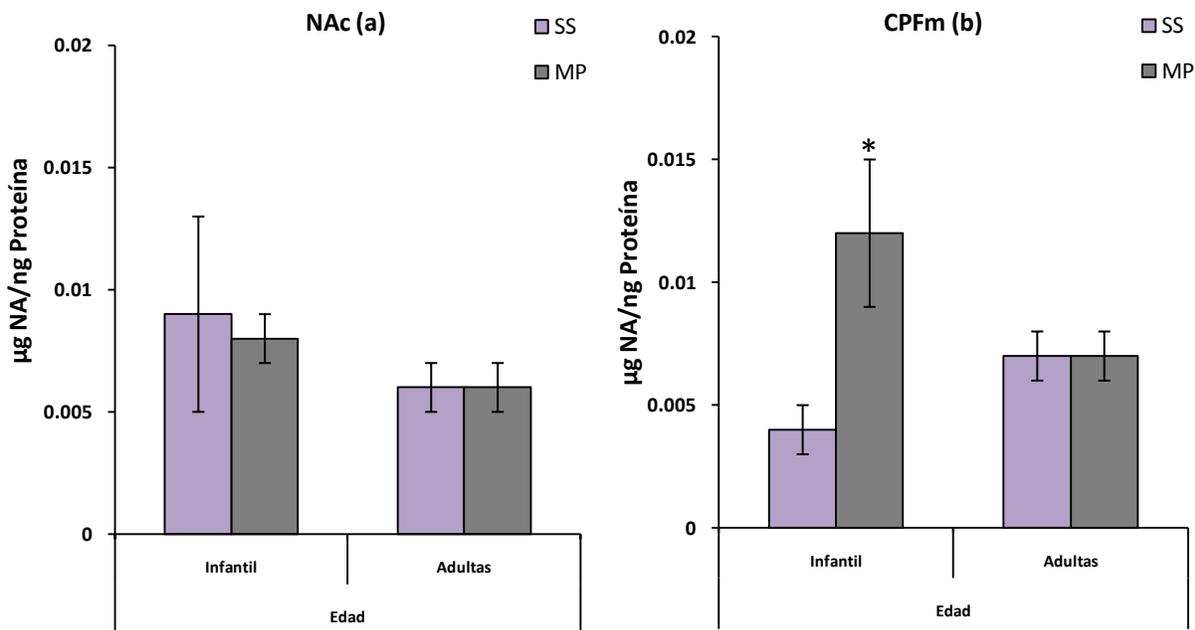


Figura 34. Ratas con tratamiento prenatal de etanol en edad prepúber y con tratamiento postnatal de metilfenidato y solución salina prepúberes (n=16) y en edad adulta (n=16). Niveles de dopamina en núcleo accumbens (a) y corteza prefrontal medial (b), MP>SS y Interacción entre el tratamiento postnatal y la edad, $p<0.05$ (b). Las barras indican la media \pm E.E.M.

DISCUSIÓN

En estudios previos de nuestro laboratorio demostramos que el tratamiento con alcohol durante los días 8 al 20 de gestación en la rata, produce crías hiperactivas e impulsivas respecto a sus controles isocalóricos (Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar). Kim y colaboradores (2012) mencionan que el tratamiento con alcohol prenatal produce hiperactividad, inatención, impulsividad y un incremento del DAT y el NET en CPF y SV. Mientras que Hausknecht y colaboradores (2005), reportan inatención y un incremento en respuestas falsas en el *Choice Reaction Time* como consecuencia de una inhibición deficiente. Por otra parte, se sabe que está exposición a alcohol produce una disminución en la actividad de las neuronas DA del ATV (Choong & Shen, 2004; Wang et al., 2006; Xu & Shen, 2001) y que está puede ser revertida con el tratamiento con psicoestimulantes como el MP (Choong & Shen, 2004; Xu & Shen, 2001). Además, este tipo de afecciones en el sistema DA se observan en clínica en algunos trastornos como el TDAH, patología en la cual el uso de MP es uno de los tratamientos de elección más comunes. El MP actúa incrementando los niveles de DA y NA por medio del bloqueo (no selectivo) de las proteínas de recaptura, de esta forma incrementa los niveles de neurotransmisor disponibles en estructuras como la CPF y el NAc, estructuras que juegan un papel importante en diversas funciones ejecutivas, entre ellas, el control inhibitorio. En la conducta impulsiva existe una disfunción del control inhibitorio, entre otros aspectos que son mediados por diferentes procesos neurales que afectan la conducta a diferente nivel (Basar et al., 2010; Dalley et al., 2008). Así mismo, se ha propuesto que existen dos tipos de control inhibitorio; uno motor o reactivo y otro cognitivo o de elección (Winstanley et al., 2005; Dalley et al., 2008; Hand et al., 2009; Basar et al., 2010; Russell, 2011; Juárez et al., 2013). El primero se refiere a una disfunción en la inhibición de una respuesta, o la emisión de una respuesta prematura (Dellu-Hagedorn, 2006; Eagle et al., 2011; Sesia et al., 2010), y el segundo a la incapacidad para tolerar la demora en la presentación de un reforzador, eligiendo un reforzador pequeño pero inmediato en su presentación respecto a uno mayor pero con demora (Cardinal & Howes, 2005; Dalley et al., 2008; Robinson et al., 2009; Winstanley et al., 2005). En este estudio nos planteamos evaluar el efecto de un tratamiento subcrónico con MP sobre los niveles de impulsividad tanto motora como cognitiva en crías de ratas que recibieron un tratamiento prenatal con etanol, así mismo, analizamos si esta conducta prevalecía en la edad adulta y, puesto que el MP incrementa tanto los

niveles de DA como los de NA, determinamos la concentración de estas catecolaminas en NAc y CPFm, tanto en la edad prepúber (40 ± 1 EPN) como en la edad adulta (90 ± 1 EPN).

La razón por la cual consideramos importante el evaluar los dos tipos de impulsividad es porque con base en las evidencias encontradas en la literatura es posible que distintos mecanismos estén involucrados en cada tipo de conducta impulsiva y que estos a su vez presenten diferencias plásticas o procesos de sensibilización diferentes.

En la literatura, existen diversas estrategias para medir la conducta de impulsividad en modelos animales, estos paradigmas están basados en características específicas del control inhibitorio como: 1) castigo y/o extinción; 2) recompensa-elección; y, 3) inhibición de la respuesta/atención (Moeller et al., 2001). En el laboratorio de Farmacología y Conducta se desarrolló un paradigma en ratas con el cual se puede evaluar tanto la impulsividad de tipo motor o reactiva como la cognitiva en un período corto de entrenamiento, lo cual permite que ésta se pueda registrar antes de la pubertad en la rata, pues la mayoría de los paradigmas empleados comúnmente en la literatura requieren de períodos de entrenamiento muy largos (*5-CSRTT*, *DRL*, *Go/No-Go*, *DDT*, etc.). Así, utilizando un puente de transición registramos estas conductas tanto en la prepubertad como en la edad adulta (Juárez et al., 2013), además se ha postulado que un modelo animal para TDAH debe de considerar factores genéticos, conductuales y una acción de psicoestimulantes; lo que se conoce como; validez de confrontación (componentes conductuales), validez de constructo (componentes genéticos) y validez de tipo predictiva (acción de psicoestimulantes), en este último componente muy pocos modelos de los disponibles en la literatura cumplen la validez de tipo predictiva (Van der Kooji & Glennon, 2007, Russell, 2011). Por ejemplo, las ratas SHR son el modelo más empleado para TDAH y en esta cepa el MP no ejerce efecto, además en algunos paradigmas para medir impulsividad o atención como el 5-CSRTT el MP incrementa los niveles de impulsividad con base a los parámetros de esa prueba (Robinson et al., 2009). En nuestro estudio, utilizamos ratas con tratamiento prenatal de alcohol pues previamente observamos que ésta manipulación durante la gestación produce crías hiperactivas e impulsivas respecto a sus controles isocalóricos (Muñoz-Villegas & Juárez, sin publicar). De esta forma, el modelo de alcohol prenatal podría ser adecuado para estudiar patologías en las cuales existen disfunciones en el control inhibitorio como lo es el TDAH, esquizofrenia, TOC y la adicción a drogas.

En este estudio la impulsividad motora (IM) se evaluó por medio de una prueba de inhibición de una conducta ante estímulos auditivos por un paradigma *Wait-to-go-signal task*. Esto es, la rata

tenía que responder ante la presentación de un estímulo auditivo para abandonar la plataforma de salida y obtener un reforzador al otro extremo, si lo hacía antes de la presentación del estímulo se consideró una comisión (impulsividad) y si dejaba la plataforma 200 cs después de la señal se consideró una omisión (inatención). Primero, las ratas tenían que responder ante un estímulo presentado cada dos segundos y a continuación se incrementó la exigencia de la prueba pues el estímulo auditivo se presentó de manera aleatoria a los 2 o 3 segundos. La conducta se registró del día 34 al 39 ± 1 de EPN a la par del tratamiento postnatal con MP. En ambas condiciones de demora, el tratamiento postnatal con MP (3 mg/Kg BW) no mostró efecto tanto en el porcentaje de aciertos como en las comisiones u omisiones respecto a su control, no obstante cuando el estímulo se presentó entre los 2-3 segundos aleatorios, el número de comisiones (impulsividad) fue mayor respecto a cuando la demora fue fija (2s). Además, ante una demora de 2s los tiempos de reacción (TR) fueron mayores para el grupo tratado con MP (menor impulsividad) a diferencia de cuando el retraso fue aleatorio. De esta forma, el tratamiento postnatal con MP (3 mg/Kg BW del día 34 al 39 ± 1 de EPN) no disminuyó los niveles de IM en ratas tratadas prenatalmente con etanol respecto a sus controles durante la edad prepúber. Al registrar la IM en edad adulta ($84-90 \pm 1$ EPN) las ratas que recibieron el tratamiento postnatal con MP tuvieron un porcentaje de aciertos mayor respecto a su control, además, el número de omisiones (inatención) fue significativamente mayor en las ratas que no recibieron MP en la preadolescencia. Y los TR para aciertos y comisiones fueron mayores en las ratas con tratamiento postnatal de MP (menos impulsivas). De esta forma, el tratamiento con MP en la prepubertad disminuyó los niveles de impulsividad en la edad adulta (incremento de aciertos) además de disminuir los niveles de inatención respecto a su grupo control. Cuando se analizó el efecto de la edad en la IM, las ratas prepúberes tuvieron un porcentaje de aciertos mayor respecto a las adultas para ambos retrasos (2 y 2-3s). Mientras que el número de omisiones (inatención) fue mayor en la edad adulta. Así, las ratas en edad prepúber son más impulsivas que las adultas y las ratas adultas son más inatentas que las prepúberes, no obstante, las ratas que recibieron MP en la preadolescencia tuvieron menos comisiones que sus controles en edad adulta, además el número de omisiones fue mayor en las ratas que no recibieron tratamiento postnatal con MP en la edad adulta. Respecto al tiempo de reacción, las ratas adultas tuvieron tiempos mayores tanto para los aciertos como para las comisiones, así el MP sensibiliza al sistema de tal manera que el incrementa en los niveles de atención en la edad adulta.

El *Stop-signal reaction task* (SSRT) se utiliza como una medida de rapidez de los procesos de inhibición, también se ha descrito que los psicoestimulantes mejoran la inhibición en modelos de TDAH donde se emplea el SSRT, asociándolos con una mejora en el funcionamiento dopaminérgico, Cardinal & Howes (2005) sugieren que la función de los receptores D1R y D2R junto con el estriado dorsomedial pueden actuar modulando el control inhibitorio, en una forma que es independiente de la activación conductual y que, en este proceso no participa el *Core* del NAc como se había descrito. En nuestro estudio, las ratas que recibieron el psicoestimulante durante la prepubertad, tuvieron tiempos de reacción mayores respecto a sus controles cuando el retraso en la presentación del estímulo auditivo fue fijo, lo cual es un indicativo de un control inhibitorio reactivo o motor mayor, sin embargo, cuando el retraso fue aleatorio, lo cual demandaba una capacidad de inhibición grande sus tiempos fueron menores. Fenómeno que fue igual en la edad adulta. Esto concuerda con los resultados observados previamente por Rivalan y colaboradores (2007), quienes mencionan que algunos paradigmas empleados comúnmente en la literatura para evaluar impulsividad motora requieren de capacidades no-específicas como lo es la estimación del tiempo y que ésta puede enmascarar los efectos benéficos sobre la conducta impulsiva que producen los psicoestimulantes. Así, a dosis bajas de anfetaminas hay una disminución en el número de respuestas prematuras para un FCN16*cue*. Los autores concluyen que la supresión de capacidades no-específicas en la conducta impulsiva en un paradigma FCN, permiten observar déficits inhibitorios, lo cual evidencia los efectos benéficos de los psicoestimulantes observados en la clínica experimentalmente. Por otro lado, Olmstead y colaboradores (2009) utilizando un paradigma *Go/No-Go* analizaron el efecto de un tratamiento de etanol prenatal (4g/Kg BW) en cobayas, los autores reportan un incremento en las respuestas *No-Go* (mayor impulsividad), lo cual asocian a una disfunción en el control inhibitorio producido por el daño de la CPF por el alcohol prenatal. Así, aunque en nuestro estudio no fue posible observar una diferencia en cuanto al número de aciertos, comisiones u omisiones en etapa prepúber, no obstante, el efecto plástico del MP sobre la conducta impulsiva se observó en la edad adulta y fue más evidente en el número de omisiones, pues las ratas control fueron más inatentas respecto a las que recibieron el psicoestimulante. Algo importante a resaltar es que el registro del control inhibitorio en la prepubertad se hizo pasados 40 minutos de la administración ip del MP, esto es, durante el pico máximo de psicoestimulante en la rata (efecto agudo), a futuro consideramos importante esperar un par de horas a partir de la administración del

psicoestimulante para registrar conductualmente a los animales. En lo referente al control inhibitorio cognitivo o de elección, las ratas se evaluaron en el puente de transición en un paradigma de *Delay-discounting* donde el sujeto experimental tenían que elegir entre un reforzador pequeño pero inmediato en su presentación respecto a uno mayor pero con una demora en su acceso (5, 7 y 10 segundos). Al igual que en la impulsividad motora, no se observó efecto del MP en la edad prepúber sobre la elección del reforzador demorado (menos impulsivo) respecto a su grupo control. Pero en lo referente a la toma de decisión, las ratas con tratamiento de MP mostraron una tendencia a menor tiempo (los sujetos fueron más activos por la activación del sistema simpático). Cuando las ratas se registraron en la adultez, al igual que en la impulsividad motora, las ratas que recibieron MP en la prepubertad tuvieron niveles menores de impulsividad respecto a sus controles, eligiendo mayormente el reforzador demorado, ante una demora de 10s en la presentación del mismo además, en lo referente al tiempo de toma de decisión, las ratas que recibieron el psicoestimulante tuvieron una tendencia a tiempos mayores (sin ser significativa). En lo referente al efecto de la edad, las ratas adultas fueron menos impulsivas que las prepúber, además de que, las ratas que recibieron MP en la prepubertad fueron menos impulsivas respecto a sus controles en edad adulta. Y en los tiempos de toma de decisión, las ratas adultas tuvieron tiempos mayores respecto a las prepúber. De esta forma, al igual que en la IM, el tratamiento con MP durante la prepúbertad no disminuyó los niveles de impulsividad, sin embargo, en la edad adulta, las ratas que fueron tratadas con el psicoestimulante fueron menos impulsivas respecto a sus controles. En un estudio previo realizado por Bizot y colaboradores (2007), analizaron el efecto del MP sobre la impulsividad cognitiva en ratas SHR, WKY y WIS, en etapa juvenil y en la adultez. Los autores mencionan que en las ratas adultas, la habilidad de espera fue menor para SHR respecto a sus cepas control (más impulsivas). La elección del reforzador mayor fue mejorada por el MP (3 y 5 mg/Kg) en las ratas juveniles, pero en las ratas adultas no se observó este efecto con dosis bajas, contrario a nuestros resultados, donde en edad adulta las ratas que recibieron MP durante la juventud fueron menos impulsivas y cuando se evaluaron en la prepubertad a la par del tratamiento farmacológico éste efecto no se observó. Por su parte, Hand y colaboradores (2009) administraron *d*-anfetamina a ratas SHR y a su cepa control WKY, empleando un paradigma de *Delay discounting* encontraron que la *d*-anfetamina no redujo la impulsividad en ratas SHR, pero incrementó los niveles de impulsividad en las ratas WKY, las cuales son poco impulsivas, lo cual resulta contradictorio con el estudio realizado previamente

por Bizot, pero concuerda con nuestros resultados donde no observamos un efecto del psicoestimulante.

Respecto al tratamiento postnatal con MP, en un estudio previo de Brandon y colaboradores (2003), administraron por 7 días MP (2 mg/Kg ip) a ratas de 4 semanas de EPN y midieron la actividad electrofisiológica de las neuronas DA en ATV, la cual se incrementó los 3 días posteriores al cese del MP y se disminuyó al transcurrir 2 semanas. Los autores concluyen que la exposición durante etapas tempranas al MP produce cambios neuronales que podrían asociarse con una mejora en la conducta en etapas posteriores en ratas, en nuestro estudio, no encontramos algún efecto diferencial sobre la conducta en las ratas en edad prepúber para ambos paradigmas (motor y cognitivo) sin embargo, al registrar la conducta nuevamente en la adultez, las ratas que recibieron MP en la prepubertad fueron menos impulsivas y tuvieron mejores niveles de atención respecto a sus controles. Mientras que Anushka y colaboradores (2012), mencionan que la activación selectiva de los receptores D1/D2 producto de un tratamiento crónico con MP reduce los niveles altos de impulsividad con base en el 5-CSRTT lo cual no se replica en nuestro estudio. Y por su parte Berridge y colaboradores (2006) encontraron que en ratas normales a dosis bajas de MP hay una mejora de las funciones cognitivas que dependen de la CPF (atención) y que no dependen de los efectos de la activación locomotora (estriado), además el MP incrementó el flujo de DA y NA en CPF, aunque fuera de esta estructura dosis tan bajas mostraron un impacto mínimo sobre los niveles de estos neurotransmisores, lo cual concuerda también con nuestros resultados, en el mismo sentido, Orduña y colaboradores (2009) analizaron el efecto del MP por medio de DRL en ratas SHR, WKY y WIS, los sujetos se dividieron en dos grupos, el primero se expuso a 70 sesiones bajo un DRL de 10s. Las ratas SHR mostraron un déficit en procesos de inhibición de respuesta. El segundo grupo de ratas fue expuesto a 30 sesiones de DRL a 10s, antes de recibir tres dosis de MP (2, 4 y 8 mg/Kg). Observándose que a dosis altas de MP la ejecución de las 3 cepas de ratas disminuye. La impulsividad mostrada por las ratas SHR durante la adquisición, además de la hiperactividad (incremento en el número de respuestas) apoya el uso de esta cepa como un modelo animal adecuado para el estudio de TDAH. No obstante, la evidencia de un procesamiento temporal normal (las ratas SHR no presentan un déficit en la sensibilidad al tiempo) y el que el MP empeorara la inhibición de respuestas en esta cepa contradice lo anterior.

En la literatura existen pocos estudios que analicen tanto la impulsividad motora como la cognitiva (Basar et al., 2010; Robinson et al., 2009; Wilhelm et al., 2007 & Wiskerke et al., 2011) y entre éstos existe bastante discrepancia en sus resultados, además el efecto del tratamiento con psicoestimulantes es diferente, mejorando generalmente el control inhibitorio cognitivo sin alterar el motor (Wiskerke et al., 2011), mientras que Wilhelm y colaboradores (2007), mencionan que el consumo de alcohol incrementa los niveles de IM con base en *Go/No-Go* sin afectar los niveles de IC medidos con el paradigma *Delay-discounting*.

Finalmente, se realizó el análisis de DA y NA por HPLC en el NAc y la CPF antes de la pubertad (39 ± 1 EPN) y en la adultez (89 ± 1 EPN) para analizar el efecto del tratamiento con MP sobre estos neurotransmisores. Tras finalizar el tratamiento postnatal, no se observaron diferencias en los niveles de DA en ambos grupos en las dos estructuras, no obstante, las ratas con tratamiento de MP tuvieron una tendencia a niveles menores de neurotransmisor respecto a su control. En el caso de la NA, el grupo tratado con MP tuvo niveles mayores de neurotransmisor para ambas estructuras, siendo significativa esta diferencia en CPFm. En la edad adulta, no se observó un efecto del tratamiento postnatal con MP, aunque se observó una tendencia a niveles mayores de DA en la CPF para las ratas que recibieron el psicoestimulante en la prepúbertad. Al analizar el efecto de la edad sobre los niveles de DA en NAc y CPF, no se observaron diferencias significativas entre los grupos, no obstante, las ratas adultas que recibieron MP en la prepúbertad presentaron niveles mayores de neurotransmisor en ambas estructuras respecto a su edad juvenil. En el caso de la NA, los niveles de neurotransmisor fueron mayores para el grupo control en edad adulta respecto a su prepubertad, sin observarse diferencia alguna en las ratas tratadas con MP para el NAc. En la CPF, se observó la misma tendencia para las ratas control sin embargo, las ratas tratadas con MP en la prepúbertad tuvieron niveles de NA mayores respecto a su edad adulta. Van der Kooji & Glennon (2007) mencionan que la DA es considerada uno de los principales factores en la etiología del TDAH, con base en: 1) La neurofarmacología de los tratamientos con psicoestimulantes; 2) las investigaciones de genética molecular; 3) los estudios en pacientes con neuroimagen; y, 4) las características conductuales y bioquímicas de los diferentes modelos animales. Así, las alteraciones del sistema DA se relacionan con algunos trastornos clínicos como el TDAH, en el cual el uso de psicoestimulantes como el MP es el tratamiento de elección al incrementar tanto los niveles de DA extracelular disponibles como los de NA, dos neurotransmisores relacionados con esta patología. En un estudio previo de nuestro

laboratorio, mostramos que el tratamiento con alcohol prenatal afecta los niveles de DA en NAc y CPF, razón por la cual nos fue de interés evaluar el efecto de un tratamiento farmacológico que actúa sobre éste sistema de neurotransmisión. una explicación plausible de nuestros resultados es que el MP al producir un incremento en los niveles de DA, se produzca como respuesta una disminución de la misma, exacerbada por la actividad de los auto receptores a DA, lo cual conlleva a una reducción de los niveles del NT en la prepubertad. Kuczenski & Segal (2002), mencionan que dosis orales bajas de MP no producen un efecto significativo en los niveles de DA en NAc ni en otras proyecciones como en la CPF, observándose un incremento únicamente en los niveles de NA en hipocampo. No obstante; la actividad eléctrica controla la síntesis y liberación de DA y la exposición prenatal al etanol reduce esta actividad lo que puede contribuir a una disminución en la cantidad de DA y sus metabolitos (DOPAC y HVA) disponibles tanto extracelular como intracelularmente (Shen et al., 1999; Xu & Shen, 2001), esta reducción en la actividad espontánea de las neuronas DA del ATV tras la exposición prenatal a alcohol puede ser normalizada por el tratamiento agudo y sistémico con metilfenidato. En comparación con el MP la Atx no incrementa los niveles de DA en estriado dorsal o NAc, esto sugiere que no influye en los aspectos motores relacionados al consumo de psicoestimulantes, como el incremento en la actividad locomotora, así la Atx incrementa la concentración de NA en CPF sin alterar la concentración de DA o 5-HT en esta estructura (Bymaster et al., 2002), en nuestro diseño experimental administramos únicamente MP, el cuál actúa sobre las proteínas de recaptura, principalmente sobre el DAT, pero también tiene acción en menor grado en el NET. Así, para las ratas tratadas con el psicoestimulante tanto en la prepubertad como en su adultez, los niveles de NA fueron similares en NAc, mientras que en la CPF, las ratas en edad prepúber tuvieron niveles mayores de NA respecto a su edad adulta. Robinson y colaboradores (2009) mencionan que la Atx disminuye los niveles impulsividad en rata (incrementa la preferencia a reforzadores grandes pero con demora y disminuye las respuestas prematuras), a diferencia del efecto de drogas psicoestimulantes como las anfetaminas y el MP quienes incrementan la impulsividad con base en los parámetros del 5-CSRTT. Por otro lado, como ya se ha venido mencionando, en ratas, el tratamiento prenatal con etanol produce una disfunción de las neuronas DA en ATV, la cual se normaliza tras el tratamiento crónico con MP en dosis bajas (1mg/Kg BW). Este incremento de los niveles extracelulares de DA no se observa en la NA cuando se administra a la par prazosin un antagonista selectivo del receptor α -1 (Choong & Shen, 2004). Por su, parte Seu y

colaboradores (2009) incrementaron los niveles extracelulares de DA y NA como producto de la inhibición farmacológica de las proteínas de recaptura de las mismas administrando MP, atomoxetina y la desipramina. Los autores mencionan que los medicamentos que inhiben los transportadores de NA como el MP, atomoxetina y la desipramina, mejoran el rendimiento de ratas y disminuyen el número de errores perseverantes en pruebas de discriminación concluyendo que el incremento en los niveles extracelulares de NA en regiones corticales producto de la inhibición de su recaptura promueve múltiples aspectos del control inhibitorio.

Respecto a los niveles de neurotransmisor encontrados en NAc y CPF previamente Chong y colaboradores (2012) empleando microelectrodos en NAc analizaron el efecto crónico y agudo del MP (2.5 mg/Kg ip) sobre la tasa de disparo de las unidades neuronales en ratas. El MP incrementó la tasa de disparo y decremento un 54% las unidades de NAc en comparación con su línea base. Tras 6 administraciones consecutivas de MP se alteró un 85% la tasa de disparo basal. Los autores sugieren que estas alteraciones en las tasas de disparo pueden ser mecanismos de inducción celular en los receptores D1 Y D2 a DA, así como una adaptación homeostática causada por el tratamiento con MP (Chong, Claussen & Dafny, 2012). Así, en éste trabajo el tratamiento postnatal con MP no mostró un efecto sobre los niveles de DA y NA tanto en NAc como en CPF para las ratas en edad prepúber, mientras que en la edad adulta, las ratas tratadas con MP tuvieron una tendencia a niveles de DA mayores para ambas estructuras. Esto concuerda con lo observado previamente en la literatura (Berridge et al., 2006). Estos resultados se pueden deber en primer lugar al efecto del tratamiento con alcohol prenatal sobre la actividad de las neuronas DA en ATV (Choong & Shen, 2004; Wang et al., 2006; Xu & Shen, 2001), sobre las proteínas de recaptura (Kim et al., 2012; Seu et al., 2009) y finalmente sobre los receptores a DA (Cardinal & Howes, 2005; Chong et al., 2012; Kuczenski & Segal, 2002).

De esta forma, el tratamiento con alcohol prenatal puede ser un modelo animal adecuado para el estudio de patologías en las cuales, la atención, hiperactividad e impulsividad se vean afectadas, además en las cuales los sistemas catecolaminérgicos se encuentren comprometidos.

Por último, es necesario que en investigaciones futuras se observe el efecto de tratamientos farmacológicos más selectivos sobre los sistemas DA y NA, así como sobre el sistema 5-HT el cual se sabe también se encuentra involucrado en este tipo de patologías, además, es importante resaltar los paradigmas empleados con el puente de transición (*Wait-to-go-signal task* y *Delay-discounting*), ya que ésta herramienta permite no solo evaluar la impulsividad antes de la pubertad

y en la edad adulta de la rata, sino que también se puede registrar la atención en ambas edades de una manera rápida y confiable.

CONCLUSIONES

1. El tratamiento postnatal con MP no disminuyó los niveles de impulsividad motora o reactiva en ratas tratadas prenatalmente con etanol respecto a sus controles durante la prepubertad.
2. El tratamiento con MP en la prepubertad disminuyó los niveles de impulsividad motora o reactiva en la edad adulta además de disminuir los niveles de inatención respecto a su grupo control.
3. Las ratas tratadas prenatalmente con alcohol en edad prepúber fueron más impulsivas que las adultas y las ratas adultas fueron más inatentas que las prepuberes.
4. En la impulsividad cognitiva no se observó efecto del MP en la edad prepúber sobre la elección del reforzador demorado respecto al control.
5. Las ratas adultas fueron menos impulsivas respecto a su etapa prepúber, eligiendo el reforzador demorado y las ratas adultas que recibieron MP en la prepubertad eligieron más el reforzador demorado respecto a su grupo control.
6. El tratamiento postnatal con MP no mostró efecto alguno sobre los niveles de DA tanto en NAc como en CPF para las ratas en edad prepúber, pero los niveles de NA fueron mayores en CPF en esta edad prepúber.
7. Se sugiere un fenómeno de sensibilización del tono dopaminérgico en las ratas adultas que fueron tratadas con MP en la preadolescencia.
8. El MP en la prepubertad no afectó ni la IM ni la IC, posiblemente debido a que la evaluación de la conducta se hizo durante el pico máximo para el MP, sin embargo en la edad adulta tuvo un efecto muy significativo, incrementando los niveles de atención y haciendo más efectivos a los sujetos.

REFERENCIAS

1. Aloe, L. (2006). Alcohol intake during prenatal life affects neuroimmune mediators and brain neurogenesis. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, Vol. 42(1), pp, 17-21.
2. Andersen, S.L., Arvanitogiannis, A., Pliakas, A.M., LeBlanc, C. & Carlezon, Jr W.A. (2001). Altered responsiveness to cocaine in rats exposed to methylphenidate during development. *Nature Neuroscience*, Vol. 5 no 1.
3. Anker, J.J., Gliddon, L.A. & Carroll, M.E. (2008). Impulsivity on a Go/No-go task for intravenous cocaine or food in male and female rats selectively bred for high and low saccharin intake. *Behavioural Pharmacology*, Vol. 19, pp, 615–629.
4. Anushka, B.P., Economidou, F-D., Theobald, D.E., Zou, M-F., Newman, A.H., Spoelder, M., Caprioli, D., Moreno, M., Hipólito, L., Aspinall, A.T., Robbins, T.W. & Dalley, J.W. (2012). Modulation of high impulsivity and attentional performance in rats by selective direct and indirect dopaminergic and noradrenergic receptor agonists. *Psychopharmacology*, Vol. 219, pp, 341–352.
5. Appel, S.B., Wise, L., McDaid, J., Koyama, S., McElvain, M.A., & Brodie, M.S. (2006). The Effects of Long Chain-Length *n*-Alcohols on the Firing Frequency of Dopaminergic Neurons of the Ventral Tegmental Area. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 318, No. 3.
6. Arias, C., Molina, J.C., Mlewski, C., Pautassi, R.C. & Spear, N. (2008). Acute sensitivity and acute tolerance to ethanol in preweanling rats with or without prenatal experience with the drug. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Vol. 89(4), pp, 608–622.
7. Arnsten, A.F.T. (2006). Fundamentals of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Circuits and Pathways. *The Journal of Clinical Psychiatry*, Vol. 67 (suppl 8).
8. Arnsten, A.F.T. (2009). Toward a New Understanding of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder Pathophysiology an Important Role for Prefrontal Cortex Dysfunction. *CNS Drugs*, Vol. 23(1), pp, 33-41.
9. Barbier, E., Pierrefiche, O., Vaudry, D., Vaudry, H., Daoust, M., Naassila, M.L. (2008). Long-term alterations in vulnerability to addiction to drugs of abuse and in brain gene expression after early life ethanol exposure. *Neuropharmacology*, Vol. 55, pp 1199–1211.
10. Bari, A. & Robbins, T.W. (2010). Animal Models of ADHD. *J.J. Hagan (ed.), Molecular and Functional Models in Neuropsychiatry, Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 7, DOI 10.1007/7854_2010_102.
11. Basar, K., Sesia, T., Groenewegen, H., Steinbusch, H.W.M., Visser-Vandewalle, V. & Temel, Y. (2010). Nucleus accumbens and impulsivity. *Progress in Neurobiology*, Vol. 92, pp, 533-557.

12. Belin, D., Mar, A.C., Dalley, J.W., Robbins, T.W. & Everitt, B.J. (2008). High Impulsivity Predicts the Switch to Compulsive Cocaine-Taking. *Science* 320, 1352; DOI: 10.1126/science.1158136.
13. Berridge, C.W., Devilbiss, D.M., Andrzejewski, M.E., Arnsten, A.F.T., Kelley, A.E., Schmeichel, B., Hamilton, C. & Spencer, R.C. (2006). Methylphenidate Preferentially Increases Catecholamine Neurotransmission within the Prefrontal Cortex at Low Doses that Enhance Cognitive Function. *Biological Psychiatry*; vol 60, pp, 1111–1120.
14. Bizot, J.C., Chenault, N., Houzé, B., Herpin, A., David, S., Pothion, S. & Trovero, F. (2007). Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats. *Psychopharmacology Journal*, Vol. 193, pp, 215–223.
15. Brandon, C.L., Marinelli, M. & White, F.J. (2003). Adolescent Exposure to Methylphenidate Alters the Activity of Rat Midbrain Dopamine Neurons. *Society of Biological Psychiatry*, Vol. 54, pp, 1338–1344.
16. Brookes, K.J., Mill, J., Guindalini, C., Curran, S., Xu, X., Knight, J., Chen, C.-K., Huang, Y.-S., Sethna, V., Taylor, E., Chen, W., Breen, G. & Asherson, P. (2006). A Common Haplotype of the Dopamine Transporter Gene Associated With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Interacting With Maternal Use of Alcohol During Pregnancy. *Archives of General Psychiatry*, Vol. 63, pp, 74-81.
17. Bymaster, F.P., Katne, J.S., Nelson, D.L., Hemrick-Luecke, S.K., Threlkeld, P.G., Heiligenstein, J.H., Morin, M., Gehlert, D.R., Perry, K.W. (2002). Atomoxetine Increases Extracellular Levels of Norepinephrine and Dopamine in Prefrontal Cortex of Rat: A Potential Mechanism for Efficacy in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 27, No. 5.
18. Cagiano, R., Cassano, T., Coluccia, A., Gaetani, S., Giustino, A., Steardo, L., Tattoli, M., Trabace, L., & Cuomo, V. (2002). Genetic Factors Involved in the Effects of Developmental Low-Level Alcohol Induced Behavioral Alterations in Rats. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 26, pp, 191–203.
19. Cardinal, R.N. & Howes, N.J. (2005). Effects of lesions of the nucleus accumbens core on choice between small certain rewards and large uncertain rewards in rats. *BMC Neuroscience*, 6:37; doi:10.1186/1471-2202-6-37.
20. Carneiro, L.M.V., Diogenes, J.P.L., Vasconcelos, S.M.M., Aragao, G.F., Noronha, E.C., Gomes, P.B. & Viana, G.S.B. (2005). Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. *Neurotoxicology and Teratology*, Vol. 27, pp, 585 – 592.
21. Chong, S.L., Claussen, C.M. & Dafny, N. (2012). Nucleus accumbens neuronal activity in freely behaving rats is modulated following acute and chronic methylphenidate administration. *Brain Research Bulletin*, Vol. 87, pp, 445– 456.

22. Choong, K.C. & Shen, R.Y. (2004). Methylphenidate Restores Ventral Tegmental Area Dopamine Neuron Activity in Prenatal Ethanol-Exposed Rats by Augmenting Dopamine Neurotransmission. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 309, pp, 444–451.
23. Chotro, M.A. & Arias, C. (2006). Exposure to low and moderate doses of alcohol on late gestation modifies infantile response to and preference for alcohol in rats. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, Vol. 42(1), pp, 22-30.
24. Curatolo, P., D'Agati, E. & Moavero, R. (2010). The Neurobiological basis of ADHD. *Italian Journal of Pediatrics*, Vol. 36(79), pp, 1-7.
25. D'Souza, M.S. & Duvauchelle, C.L. (2006). Comparing nucleus accumbens and dorsal striatal dopamine responses to self-administered cocaine in naïve rats. *Neuroscience Letters Journal*, Vol 408, pp, 146–150.
26. Dalley, J.W., Mar, A.C., Economidou, D. & Robbins, T.W. (2008). Neurobehavioral mechanisms of impulsivity: Fronto-striatal systems and functional neurochemistry. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, Vol. 90, pp, 250–260.
27. Dazzi, L., Seu, E., cherchil, G., Barbieri, P.P. & Matzeu, A. (2007). Estrous Cycle-Dependent Changes in Basal and Ethanol-Induced Activity of Cortical Dopaminergic Neurons in the Rat. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 32, pp, 892–901.
28. Dellu-Hagedorn, F. (2006). Relationship between impulsivity, hyperactivity and working memory: a differential analysis in the rat. *Behavioral and Brain Functions*, 2:10; doi:10.1186/1744-9081-2-10.
29. Devilbiss, D.M. & Berridge, C.W. (2008). Cognition-Enhancing Doses of Methylphenidate Preferentially Increase Prefrontal Cortex Neuronal Responsiveness. *Biological Psychiatry*, vol. 4, No. 037.
30. Eagle, D.M., Wong, J.C.K., Allan, M.E., Mar, Theobald, D.E. & Robbins, T.W. (2011). Contrasting roles for dopamine D1- and D2-receptor subtypes in the dorsomedial striatum but not the nucleus accumbens core during behavioral inhibition in the stop-signal task in rats. *The Journal of Neuroscience*, vol.31(20),pp,7349–7356; doi:10.1523/JNEUROSCI.6182-10.2011.
31. Engert, V. & Pruessner, J.C. (2008). Dopaminergic and Noradrenergic Contributions to Functionality in ADHD: The Role of Methylphenidate. *Current Neuropsychology*, Vol. 6, pp, 322-328.
32. Feldman, R.S., Meyer, J.S. & Quenzer, L.F. (1997). Principles of Neuropsychopharmacology. *Sinauer Associates, Inc., Publishers*. Sunderland, Massachusetts. Pp 277-344.

33. Feron, F.J.M., Hendriksen, J.G.M., Kroonenburgh, M.J.P.G., Blom-Coenjaerts, C., Kessels, A.G.H., Jolles, J., Weber, W.E.J., & Vles, J.S.H. (2005). Dopamine Transporter in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder Normalizes After Cessation of Methylphenidate. *Journal of Pediatric Neurology*, Vol. 33, pp, 179-183.
34. García-Lecumberri, C., Torres, I., Martín, S., Crespo, J.A., Miguéns, M., Nicanor, C., Higuera-Matas, A. & Ambrosio, E. (2010). Strain differences in the dose–response relationship for morphine self-administration and impulsive choice between Lewis and Fischer 344 rats. *Journal of Psychopharmacology*, vol. (0), pp 1–9.
35. Hand, D.J., Fox, A.T. & Reilly, M.P. (2009). Differential effects of d-amphetamine on impulsive choice in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Behavioural Pharmacology*, Vol. 20, pp, 549-553.
36. Hausknecht, K.A., Acheson, A., Kieres, A.K., Shen, R.Y., Richards, J.B., & Sabol, K.E. (2005). Prenatal alcohol exposure causes attention deficits in male rats. *Behavioral Neuroscience*, Vol. 119, pp, 302–310.
37. Heal, D.J., Smith, S.L. & Findling, R.L. (2011). ADHD: Current and Future Therapeutics. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. DOI 10.1007/7854_2011_125.
38. Heal, D.J., Smith, S.L., Kulkarni, R.S. & Rowley, H.L. (2008). New perspectives from microdialysis studies in freely-moving, spontaneously hypertensive rats on the pharmacology of drugs for the treatment of ADHD. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, Vol. 90, pp, 184–197; doi:10.1016/j.pbb.2008.03.016.
39. Ikegami, A., D’Souza, M.S. & Duvauchelle, C.L. (2007). Experience-Dependent Effects of Cocaine Self-Administration/Conditioning on Prefrontal and Accumbens Dopamine Responses. *Behavioral Neuroscience*, Vol. 121(2), pp, 389–400.
40. Ikemoto, S. (2007). Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Reviews*, Vol. 56(1); pp 27–78.
41. Juárez, J. & Vázquez-Cortés, C. (2010). Corticosterone treatment before puberty sensitizes the effect of oral methylphenidate on locomotor activity in preadolescence and produces differential effects in adulthood. *Brain Research*, Vol. 1346, pp 195-203.
42. Juárez, J., Muñoz-Villegas, P., Guerrero-Álvarez, A. & Flores-Ocampo, P. (2013). Assessing Impulsivity in Prepubertal Male Rats: A Novel Device and Method to Assess Motor and Cognitive Impulsivity. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, Vol. 21, No. 4, pp, 315–322.
43. Kim, P., Park, J.H., Choi, C.S., Choi, I., Joo, S.H., Kim, M.K., Kim, S.Y., Kim, K.C., Park, S.H., Kwon, K.J., Lee, J., Han, S-H., Ryu, J.H., Cheong, J.H., Han, J.Y., Ko, K.N. & Shin, C.Y. (2012). Effects of Ethanol Exposure During Early Pregnancy in

Hyperactive, Inattentive and Impulsive Behaviors and MeCP2 Expression in Rodent Offspring. *Neurochemical Research*; DOI 10.1007/s11064-012-0960-5.

44. Koyama, S., Brodie, M.S., & Appel, S.B. (2007). Ethanol Inhibition of M-Current and Ethanol-Induced Direct Excitation of Ventral Tegmental Area Dopamine Neurons. *Journal of Neurophysiology*, Vol. 97(3), pp, 1977–1985.
45. Kuczenski, R. & Segal, D.S. (2002). Exposure of Adolescent Rats to Oral Methylphenidate: Preferential Effects on Extracellular Norepinephrine and Absence of Sensitization and Cross-Sensitization to Methamphetamine. *The Journal of Neuroscience*, Vol. 22(16); pp, 7264–7271.
46. Kurniawan, I.T., Guitart-Masip, M. Dolan, R.J. (2011). Dopamine and effort-based decision making. *Frontiers in Neuroscience*; Vol. 5(81), pp, 1-10; doi: 10.3389/fninf.2011.00081.
47. Matell, M.S. & Portugal, J.S. (2007). Impulsive Responding on the peak-interval procedure. *Behavior Processes Journal*, vol. 74(2), pp, 198–208.
48. Moeller, F.G., Barratt, E.S., Dougherty, D.M., Schmitz, J.M. & Swann, A.C. (2001). Psychiatric Aspects of Impulsivity. *Journal of the American Psychiatric Association*; Vol. 158, pp, 1783–1793.
49. Moreno, M., Economidou, D., Mar, A.C., López-Granero, C., Caprioli, D., Theobald, D.H., Fernando, A., Newman, A.H., Robbins, T.W. & Dalley, J.W. (2013). Divergent effects of D2/3 receptor activation in the nucleus accumbens core and shell on impulsivity and locomotor activity in high and low impulsive rats. *Psychopharmacology* Vol. 228, pp, 19–30. DOI 10.1007/s00213-013-3010-3.
50. Muñoz-Villegas, P. & Juárez, J. (2010). Actividad locomotriz, conducta impulsiva y niveles de dopamina en núcleo accumbens y corteza prefrontal en ratas expuestas prenatalmente al alcohol. Datos no publicados.
51. *National toxicology program*, US department of health and human services, ntp-cerhr expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of methylphenidate. March, 2005 ntp-cerhr.
52. Nestler, E.J., Hyman, S.E. & Malenka, R.C. (2001). Catecholamines in Molecular neuropharmacology. *McGraw-Hill, United States of America*. Pp 167-190.
53. Oberlin, B.G. & Grahame, N.J. (2009). High-Alcohol Preferring Mice Are More Impulsive Than Low-Alcohol Preferring Mice as Measured in the Delay Discounting Task. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, Vol. 33(7), pp,1294–1303. doi:10.1111/j.1530-277.2009.00955.x.

54. Olmstead, M.C., Martin, A., Brien, J.F. & Reynolds, J.N. (2009). Chronic prenatal ethanol exposure increases disinhibition and perseverative responding in the adult guinea pig. *Behavioural Pharmacology*, 20(5-6):554-7. doi: 10.1097/FBP.0b013e3283305e27.
55. Orduña, V., Valencia-Torres, L. & Bouzas, A. (2009). DRL performance of spontaneously hypertensive rats: Dissociation of timing and inhibition of responses. *Behavioural Brain Research*, Vol. 201, pp, 158–165.
56. Paxinos G. & Watson C. (2007). The rat brain in stereotaxic coordiNETes. 7th edition. *Elsevier*, 2007.
57. Perry, J.L., Stairs, D.J. & Bardo, M.T (2008). Impulsive choice and environmental enrichment: Effects of d-amphetamine and methylphenidate. *Behavioural Brain Research*, Vol. 193(1), pp, 48–54. doi:10.1016/j.bbr.2008.04.019.
58. Ponnappa, B.C. & Rubin, E. (2000). Modeling Alcohol's Effects on Organs in Animal Models. *Alcohol Research & Health*. Vol. 24, No. 2.
59. Rathbun,, W. & Druse, M.J. (1985). Dopamine, Serotonin, and Acid Metabolites in Brain Regions from the Developing Offspring of Ethanol-Treated Rats. *International Society for Neurochemistry*.
60. Riley, E.P. & McGee, C.L. (2005) Fetal Alcohol Spectrum Disorders: An Overview with Emphasis on Changes in Brain and Behavior. *The National Institute on Alcohol and Alcohol Abuse*, 1535-3702/05/2306-0357.
61. Rivalan, M, Grégoire, S & Dellu-Hagedorn, F (2007). Reduction of impulsivity with amphetamine in an appetitive fixed consecutive number schedule with cue for optimal performance in rats. *Psychopharmacology*, Vol. 192, pp, 171–182; DOI 10.1007/s00213-007-0702-6.
62. Robbins, T.W. (2002). The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology*, Vol. 163, pp, 362-380; DOI 10.1007/s00213-002-1154-7.
63. Robinson, Eagle, Economidou, Theobald, Mar, Murphy, Robbins & Dalley (2009). Behavioural characterisation of high impulsivity on the 5-choice serial reaction time task: Specific deficits in 'waiting' versus 'stopping'. *Behavioural Brain Research*, Vol. 196, pp, 310–316; doi:10.1016/j.bbr.2008.09.021.
64. Russell V.A., Sagvolden T., & Johansen E.B. (2005). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioral and Brain Functions*, 1:9.
65. Russell, V.A. (2011). Overview of Animal Models of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). *Current Protocols in Neuroscience*, Vol. 9.35.1-9.35.25. Chapter 9:Unit9.35. doi: 10.1002/0471142301.ns0935s54.

66. Sesia, T., Bulthuis, V., Tan, S., Lim, L.W., Vlamings, R., Blokland, A., Steinbusch, H.W.M., Sharp, T., Visser-Vandewalle, V. & Temel, Y. (2010). Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell increases impulsive behavior and tissue levels of dopamine and serotonin. *Experimental Neurology*, Vol. 225, pp, 302–309.
67. Seu, E., Lang, A., Rivera, R.J. & Jentsch, J.D. (2009). Inhibition of the norepinephrine transporter improves behavioral flexibility in rats and monkeys. *Psychopharmacology*, vol. 202, pp, 505-519.
68. Shen, R.Y., Choong, K.C. & Thompson, A.C. (2006). Long-term reduction in ventral tegmental area dopamine neuron population activity following repeated stimulant or ethanol treatment. *Biological Psychiatry*; Vol. 61(1), pp, 93-100.
69. Shen, R.Y., Hannigan, J.H., & Kapatos, G. (1999). Prenatal ethanol reduces the activity of adult midbrain dopamine neurons. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, Vol. 23, pp, 1801–1807.
70. Sigh, S.P. & Snyder, A.K. (1982). Ethanol Ingestion during Pregnancy: Effects on Pregnant Rats and Their Offspring. *The Journal of Nutrition*, Vol. 112, pp, 98-103.
71. Stanford, S.C., (2001). Noradrenaline, in Webster R.A., In Neurotransmitters, Drugs and Brain Function. *Wiley, London, UK, pp 163- 185*.
72. Stanis, J.J., Burns, R.M., Sherrill, L.K. & Gulley, J.M. (2008). Disparate cocaine-induced locomotion as a predictor of choice behavior in rats trained in a delay-discounting task. *Drug Alcohol Depend*, doi:10.1016/j.drugalcdep.2008.04.009.
73. Szabo, S.T., Gould, T.D. & Manji, H.K. (2000). Neurotransmitters, Receptors, Signal Traduction, and Second Messagers in Psychiatric Disorders, in Schatzberg A.F. & Nemeroff C.B., Text book Psychopharmacology. *The American Psychiatric Publishing, Washington DC. pp 3-52*.
74. Tattoli, M., Cagiano, R., Gaetani, S., Ghiglieri, V., Giustino, A., Mereu, G., Trabace, L. & Cuomo V. (2001). Neurofunctional Effects of Developmental Alcohol Exposure in Alcohol-Preferring and Alcohol-Nonpreferring rats. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 24, No 6.
75. Van der Kooji, M.A. & Glennon, J.C. (2007), Animal models concerning the role of dopamine in attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. 31, pp, 597–618.
76. Vanderschuren, L.J. & Kalivas, P.W. (2000), Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)*, Vol. 151(2-3); pp, 99-120.

77. Vanderschuren, L.J.M.J, Trezza, V., Roose, S.G., Schiepers, O.J.G., Leeuwen, N.V., De Vries, T.J. & Schoffelme, A.N.M. (2008). Methylphenidate Disrupts Social Play Behavior in Adolescent Rats. *Neuropsychopharmacology*, Vol.33, pp, 2946–2956.
78. Viggiano, D., Ruocco, L.A., Arcieri, S. & Sadile, A.G. (2004). Involvement of Norepinephrine in the Control of Activity and Attentive Processes in Animal Models of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Neural Plasticity*, Vol. 11, No. 1-2.
79. Volkow, N.D., Fowler, J.S. & Wang, G.-L. (2002). Role of fopamine in drug reinforcement and addiction in humans: results from imaging studies. *Behavioural Pharmacology*; Vol.13, pp, 355-366.
80. Waes, V.V., Beverley, J., Marinelli, M. & Steiner, H. (2010). SSRI antidepressants potentiate methylphenidate (Ritalin) induced gene regulation in the adolescent striatum. *The European Journal of Neuroscience*, Vol. 32(3), pp, 435–447. doi:10.1111/j.1460-9568.2010.07294.x.
81. Wang, J., Haj-Dahmane, S., & Shen, R. (2006). Effects of Prenatal Ethanol Exposure on the Excitability of Ventral Tegmental Area Dopamine Neurons in Vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 319, pp, 857–863.
82. Webster, R.A. (2001). Dopamine (DA). In, Webster R.A. Neurotransmitters, Drugs and Brain Function. *John Wiley & Sons Ltd, England. Pp 135-161.*
83. Wilhelm, C.J. & Mitchell, S.H. (2008). Rats bred for high alcohol drinking are more sensitive to delayed and probabilistic outcomes. *Genes, Brain and Behavior*; doi: 10.1111/j.1601-183X.2008.00406.x.
84. Wilhelm, C.J., Reeves, J.M., Phillips, T.J. & Mitchell, S.H. (2007). Mouse lines selected for alcohol consumption differ on certain measures of Impulsivity. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, Vol 31, pp, 1839–1845.
85. Winstanley, C.A., Theobald, D.E.H., Dalley, J.W. & Robbins, T.W. (2005) Interactions between Serotonin and Dopamine in the Control of Impulsive Choice in Rats: Therapeutic Implications for Impulse Control Disorders. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 30, pp, 669–682.
86. Wiskerke, J., Stoop, N., Schetters, D., Schoffelmeer, A.N.M. & Pattij, T. (2011). Cannabinoid CB1 Receptor Activation Mediates the Opposing Effects of Amphetamine on Impulsive Action and Impulsive Choice. *PLoS ONE* 6(10): e25856. doi:10.1371/journal.pone.0025856.
87. Xu, C. & Shen, R.Y. (2001) Amphetamine normalizes the electrical activity of dopamine neurons in the ventral tegmental area following prenatal ethanol exposure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 297, pp, 746-752.

88. Zhou, R., Wang, S. & Zhu, X. (2012). Prenatal Ethanol Exposure Alters Synaptic Plasticity in the Dorsolateral Striatum of Rat Offspring via Changing the Reactivity of Dopamine Receptor. *PLoS ONE* Vol. 7(8): e42443. doi:10.1371/journal.pone.0042443.

1. Tratamiento Prenatal.

El tratamiento prenatal con alcohol intragástrico comienza el día 8 de gestación y termina el día 20.

Se administró una concentración de alcohol de 6 g/Kg BW en 2 tomas diarias (3 g/Kg BW cada una) con una separación de 5 horas entre sí (comenzando a las 10 de la mañana), excepto los fines de semana los cuales se administró una sola dosis de alcohol de 4 g/Kg BW. La solución de alcohol se preparó al 20% v/v esto es, 20 ml de alcohol etílico desnaturalizado por cada 80 ml de agua destilada.

Se sujetó a la rata por el cuello y la cola de forma que quedara inmobilizada, se le introdujo una sonda de acero inoxidable por el esófago y se le administró a flujo constante la solución (Figura 35).

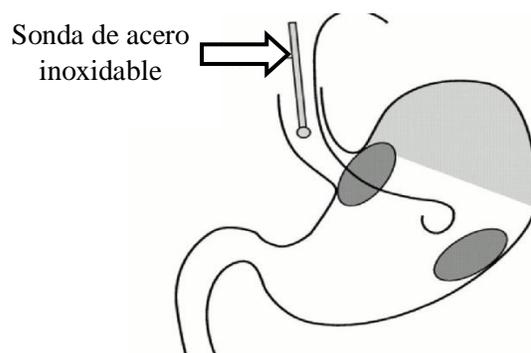


Figura 35. Administración intragástrica de alcohol durante la gestación.

2. Tratamiento post-natal.

A partir del día 34 y hasta el 39 (EPN) a la mitad de las ratas de los grupos de IE e IM se les administró MP ip en una dosis de 3 mg/Kg BW y a la mitad restante de cada grupo se les administrará solución salina fisiológica (SS) ip estéril. Transcurridos 40 minutos después de la administración de MP ip o SS ip se evaluó la conducta impulsiva correspondiente (motora o cognitiva).

El Metilfenidato (MP) es un medicamento formado por una mezcla 50/50 de los enantiómeros dextrógiro y levógiro. Su nombre químico es el metil-alfa-fenil-2-piperildinacetato. La fórmula química del MP es $C_{14}H_{19}NO_2$ (ver Figura 36). Su masa molecular es de 233.31 unidades de masa atómica (UMA). La fórmula química del MP hidroclorado es $C_{14}H_{19}NO_2.HCl$ y tiene una masa molecular de 269.77 UMA (*National toxicology program US, 2005*).

El MP que se administró fue el hidrocloreto (*Ritalin*) cuyo tiempo de vida media es de 2.4 ± 0.7 horas. Se disolvió cada tableta de 10 mg en 10 ml de SS estéril. Se filtró entre 2 veces y se inyectó por vía ip limpiando primero el lugar de la inyección y nunca inyectando un volumen mayor al 1% del peso relativo del animal.

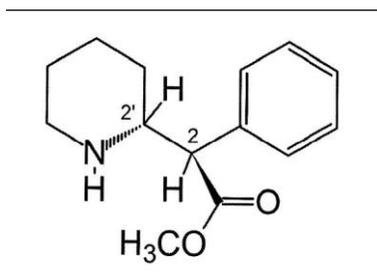


Figura 36. Estructura química del metilfenidato

Cada día se preparó una solución nueva de MP, desechando siempre los sobrantes. Las ratas control fueron inyectadas con solución salina fisiológica estéril con las mismas especificaciones que en el MP.

3. Puente de transición para las pruebas de impulsividad.

Descripción del Aparato.

Consta de una estructura principal formada por dos pedestales laterales frontales (60 cm de alto), separados (60 cm), verticales en paralelo (1 y 2). Los pedestales están conectados por un soporte transversal (3), colocado horizontalmente para proporcionar una mayor estabilidad. La parte superior de cada soporte frontal (1 y 2) tiene dos plataformas, cada una dividida en dos secciones (15 x 15 cm cada una): A, C para el pedestal 1, y B, D para pedestal 2 (Figura 11), las secciones (A, C y B, D) se pueden utilizar de forma independiente o como unidad única (A-C y B-D, respectivamente). El paso de una plataforma a otra en cada pedestal puede ser impedido mediante la inserción de un panel desmontable (4, 5) verticalmente a través de las ranuras hechas para este propósito en la sección media de la plataforma superior y alineada a lo largo del plano horizontal longitudinal del dispositivo para formar dos plataformas independiente sin posibilidad de comunicación entre cada lado del panel: A, C para el pedestal 1 y B, D para pedestal 2. Los paneles (4, 5) tienen 25 cm de altura para que los animales no puedan pasar por encima de ellos y

cruzar al otro lado de la plataforma. El movimiento de la plataforma A (pedestal 1) a la plataforma B (pedestal 2), y desde la plataforma C (pedestal 1) a la plataforma D (pedestal 2) es logrado por medio de puentes desmontables; 6 y 7, respectivamente. Los puentes se montan horizontalmente en la parte superior de cada pedestal frontal, es decir, 60 cm por encima del nivel del piso.

La longitud y la anchura de los puentes pueden variar de acuerdo a los objetivos específicos de cada experimento. El aparato está equipado con una bocina (8) colocada a lado de pedestal 1, y está programada para emitir sonidos a diferentes frecuencias y tonos, que sirven como señales experimentales indicando al sujeto que se va a llevar a cabo un comportamiento predeterminado, una interfaz (9) que se inserta en la sección media de la pared frontal de uno de los pedestales (2) como un medio de automatización de la estimulación y la medición del comportamiento del cual el animal está siendo entrenado. La información detallada de cada el comportamiento del sujeto es enviada digitalmente a una PC (Juárez et al., 2013). La Figura 11 muestra el puente de transición para registrar impulsividad tanto motora como cognitiva.

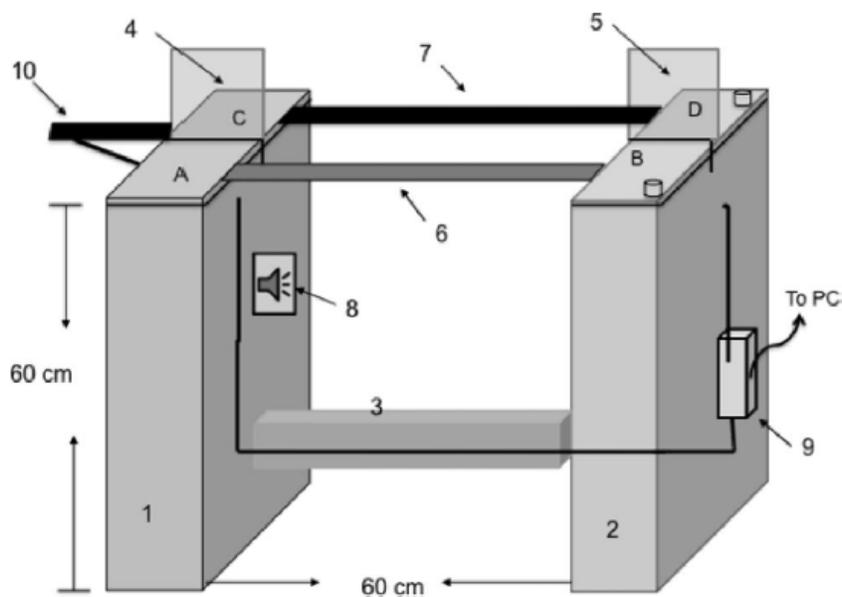


Figura 11. Puente de Transición.

4. Determinación de catecolaminas por HPLC.

Tras el sacrificio de las ratas, se extrajo rápidamente el cerebro y se congeló a -80°C con nitrógeno líquido hasta el momento de la determinación de catecolaminas, este proceso debe de ser lo más rápido posible para evitar la degradación de neurotransmisor con el paso del tiempo.

La cuantificación de DA y NA se realiza en *mg de neurotransmisor/ng de proteína*, esto es; en una cama con hielo seco se realizaron los cortes bilaterales de las estructuras y se formó un homogéneo de tejido el cual se sonó por vibraciones ultrasónicas, así en el sobrenadante se encontraba el neurotransmisor y en el sedimento se determinaron los ng de proteína.

DETERMINACIÓN DE DOPAMINA Y NORADRENALINA POR HPLC

La DA y la NA fueron medidas por HPLC con detección electroquímica. Utilizando una fase móvil de ácido heptasulfónico (KH_2PO_4) 0.025 M en agua ($\text{pH}=3$) + acetonitrilo 0.3 mM y una columna para la detección de catecolaminas (4.6 x 75 mm Zorbax SB-C18, 3.5 μm), en NAc y CPFm de acuerdo a las coordenadas especificadas y utilizando una serie de estándares con valores conocidos.

Las estructuras fueron diseccionadas con base en el atlas de Paxinos & Watson 6ta edición, como sigue; NAc de Bregma 2.76 mm, Interaural 11.76 mm a Bregma 0.96 mm, Interaural 9.96 mm; CPFm de Bregma 4.68 mm, Interaural 13.68 mm a Bregma 2.76 mm, Interaural 11.76 mm. Las disecciones se hicieron bilateralmente.

PREPARACIÓN DEL TEJIDO PARA EL ANÁLISIS DE DOPAMINA Y NORADRENALINA

1. Disecar el tejido del área designada en nitrógeno líquido lo más rápidamente posible.
2. Depositar el tejido en un tubo Eppendorf y agregar 1 ml de 0.1 N PCA (ácido perclórico). Sonicar el tejido hasta que este se haya desintegrado totalmente.
3. Centrifugar dos veces por 20 minutos a 10,000 rpm a 4°C .
4. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio y analizar para monoaminas. Almacenar las muestras a -80°C . Evitar congelar y descongelar el sobrenadante.
5. Remover el exceso de sobrenadante del pellet (dejando secar el tubo destapado a temperatura ambiente por 1 ó dos días). Una vez seco adicionar NaOH (hidróxido de sodio) 0.5M y refrigerar a 4°C al menos durante una noche. Sonicar este tejido, dejar

que se desaparezcan las burbujas formadas y posteriormente medir la concentración de proteínas.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE BRADFORD

Calibración de la albúmina

1. Pesar albúmina para tener una concentración final de 0.5 mg/ml
2. Incubar a 37°C por 30 minutos
3. Leer a Abs₅₆₂ nm.
4. Hacer stocks de 0.5 ml.

Procedimiento

1. Poner en tubos Eppendorf, BSA 0.5 mg/ml a concentración ascendente (25, 125, 250, 500, 750, 1000, 1500 y 2000 µg/ml).
2. Completar a 100 µL con NaCl 0.15 M
3. Adicionar reactivo de Bradford diluído.
4. Agitar en vórtex unos segundos
5. Leer a Abs₅₆₂ nm después de 30 minutos de incubación a 37°C. No dejar pasar más de 10 minutos por que el colorante precipita lo cual afecta la lectura.
6. Para generar la curva se hacen lecturas por duplicado.
7. Muestras se leen por duplicado.