



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

***“ESTUDIO COMPARATIVO SOBRE EL EFECTO DE LA RISPERIDONA Y LA
OLANZAPINA EN LA CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE
REGIONES LÍMBICAS EN EL MODELO DE LESIÓN NEONATAL DE HIPOCAMPO
VENTRAL EN RATA”***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOMEDICINA

PRESENTA

ANDREA JUDITH VÁZQUEZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. GONZALO FLORES ÁLVAREZ

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. RUBÉN A. VÁZQUEZ ROQUE

H. Puebla de Zaragoza,.

Enero, 2020

ÍNDICE

I. FIGURAS.....	03
II. ABREVIATURAS.....	04
1. RESUMEN.....	05
2. INTRODUCCIÓN.....	06
3. ANTECEDENTES.....	07
3.1. ANTECEDENTES GENERALES.....	07
3.1.1 Definición.....	07
3.1.2 Cuadro clínico.....	08
3.1.3 Etiología.....	08
3.1.4 Fisiopatología de la esquizofrenia.....	11
3.1.5 Factores causales.....	14
3.1.6 Teoría del neurodesarrollo y áreas implicadas.....	14
3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	16
3.2.1 Terapia farmacológica.....	16
3.2.2 Olanzapina.....	17
3.2.3 Risperidona.....	19
3.2.4 Modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral.....	21
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
5. OBJETIVOS.....	25
5.1. Objetivo General.....	25
5.2. Objetivos Particulares.....	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
6.1 Diagrama de trabajo.....	27
6.2 Técnicas y procedimientos.....	28
7. RESULTADOS.....	33
7.1 Actividad locomotora.....	33
7.2 Densidad de espinas dendríticas.....	34
7.3 Tipificación de espinas dendríticas.....	36
8. DISCUSIÓN.....	39
9. CONCLUSIÓN.....	42
10. PERSPECTIVAS.....	43
11. BIBLIOGRAFÍA.....	44

I. FIGURAS

Figura 1. Vías dopaminérgicas.....	12
Figura 2. Vías serotoninérgicas.....	13
Figura 3. Imágenes de resonancia magnética de gemelos discordantes para la SZ.....	15
Figura 4. Estructura química de la olanzapina.....	17
Figura 5. Perfil farmacológico y de unión de la olanzapina.....	18
Figura 6. Estructura química de la risperidona.....	19
Figura 7. Perfil farmacológico y de unión de la risperidona.....	20
Figura 8. Línea de tiempo de la aparición de cambios.....	22
Figura 9. Fotografías representativas de cortes coronales de ratas sham y LNHV.....	23
Figura 10. Caja de actividad locomotora.....	30
Figura 11. Localización neuroanatómica.....	32
Figura 12. Fotomicrografías representativas de los tipos de espinas dendríticas.....	33
Figura 13. Actividad locomotora en tratamiento LNHV + RISP.....	33
Figura 14. Actividad locomotora en tratamiento LNHV + OLZ.....	34
Figura 15. Análisis de la densidad de espinas dendríticas de la CPF capa v.....	35
Figura 16. Análisis de la densidad de espinas dendríticas de la ABL.....	36
Figura 17. Análisis de los tipos de espinas dendríticas de la CPF capa v + RISP.....	37
Figura 18. Análisis de los tipos de espinas dendríticas de la CPF capa v + OLZ.....	38
Figura 19. Análisis de los tipos de espinas dendríticas de la ABL + RISP.....	39
Figura 20. Análisis de los tipos de espinas dendríticas de la ABL + OLZ.....	40

II. ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
ABL	Amígdala basolateral
ANOVA	Análisis de varianza
AVT	Área ventral tegmental
CPF	Corteza prefrontal
DA	Dopamina
DP	Día posnatal
LNHV	Lesión neonatal del hipocampo ventral
Nacc	Núcleo Accumbens
NO	Óxido nítrico
OLZ	Olanzapina
PBS	Solución buffer de fosfatos
RISP	Risperidona
SNC	Sistema nervioso central
SSI	Solución salina
SZ	Esquizofrenia

1. RESUMEN

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica compleja de etiología idiopática que representa un grave problema de salud pública al tener una incidencia del 1% a nivel mundial de los cuales un tercio de los pacientes se suicidan, además es de difícil diagnóstico y tratamientos ineficientes. Actualmente se conoce que alteraciones en áreas corticales y límbicas en periodos cruciales del neurodesarrollo desembocan en la sintomatología propia de la enfermedad. Bajo esta premisa, se han desarrollado modelos animales que mimetizan estas alteraciones y reproducen aspectos morfológicos de la enfermedad, como es el modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral en rata, técnica capaz de interrumpir las conexiones en diferentes áreas cerebrales dando como resultado un modelo efectivo para el estudio de la esquizofrenia. La *olanzapina* y *risperidona* son antipsicóticos atípicos que actúan como bloqueadores de la transmisión dopaminérgica y serotoninérgica y con baja probabilidad de producir síntomas extrapiramidales. El mecanismo de acción de ambos fármacos presenta cierta incertidumbre actualmente, sin embargo, han demostrado eficacia farmacológica para disminuir algunos síntomas de la esquizofrenia.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración de éstos antipsicóticos sobre la caracterización de espinas dendríticas de neuronas piramidales de la corteza prefrontal y la amígdala basolateral en el modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral en rata. Para demostrar los anterior, se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley de 7 días posnatales a los cuales se les realizó la lesión excitotóxica, que consiste en una cirugía esterotáxica con aplicación de ácido iboténico. A los 90 días posnatales, se subdividieron en grupos administrados con olanzapina por 21 días, risperidona por 21 días y los respectivos grupos control. Terminado el tratamiento se evaluó la densidad y tipificación de espinas dendríticas de neuronas piramidales de la corteza prefrontal capa V y la amígdala basolateral con la tinción de Golgi-Cox. Los resultados demuestran la disminución de espinas dendríticas y cambios en la tipificación de éstas por la lesión realizada, sin embargo, se presentan mejorías en estos dos aspectos en los grupos tratados con los antipsicóticos.

2. INTRODUCCIÓN

El término “*esquizofrenia*” (SZ) fue acuñado por Eugen Bleuler en 1911 para referirse a una “ruptura de la realidad”, producida por la desorganización de las diversas funciones de la mente, de modo que pensamientos y sentimientos por lo general, ya no van al unísono (Carlson, 2005). Esta patología es un síndrome clínico que se caracteriza por síntomas psicóticos crónicos e incapacidad psicosocial que conllevan a considerables gastos humanos y económicos. La sintomatología de la enfermedad se ha clasificado en tres tipos: los síntomas positivos que incluyen alucinaciones, alteraciones en la percepción, anormalidades en el pensamiento inferencial e ideas delirantes. Los síntomas negativos son abulia (falta de iniciativa), alogia (ausencia o disminución del lenguaje) y aislamiento social. Por último, los síntomas cognitivos se describen como una limitación en los procesos mnemónicos en pacientes con SZ deficiencias en la atención y la memoria. (Wong, 2003).

El estudio de la SZ se ha apoyado en modelos animales que caracterizan aspectos conductuales, morfológicos, bioquímicos o genéticos que permitan comprender mejor su fisiopatología (Tendilla-Beltran, 2019; Tseng y cols., 2009; Vázquez-Roque, 2012), además de una mejor comprensión del tratamiento farmacológico que, actualmente cuenta con deficiencias, por lo que el estudio de este factor es fundamental para el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas.

Un modelo animal disponible en la actualidad asociado a la SZ ampliamente caracterizado es el modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral (LNHV). Concebido por Lipska, Weinberger y colegas en los 90's, la LNHV permite reproducir ciertas características de la SZ sin la necesidad de métodos farmacológicos. Varios estudios sugirieron que los factores estresantes ambientales como las complicaciones obstétricas, las enfermedades infecciosas que afectan a las madres embarazadas del segundo al tercer trimestre de la vida fetal o la desnutrición, conllevaban un mayor riesgo de SZ en la descendencia (Tseng y cols, 2009).

Así mismo, las ratas con LNHV desencadenan una serie de cambios conductuales, moleculares y fisiológicos que se extrapolan a una variedad de aspectos de la SZ, los cuales suelen debutar en un momento particular en el desarrollo, específicamente alrededor de la adolescencia o la adultez temprana (Tseng y cols, 2008).

3. ANTECEDENTES

3.1. ANTECEDENTES GENERALES

3.1.1 Definición.

La SZ es una colección de signos y síntomas de etiología idiopática, predominantemente definida por episodios psicóticos. Comúnmente, esta patología se presenta con delirios paranoides y alucinaciones auditivas en la adolescencia o adultez temprana (Insel, 2010).

Se sabe también que la SZ es una condición psiquiátrica compleja y de etiología idiopática que afecta a aproximadamente 1% de la población mundial y es uno de los problemas de salud mental más importantes en el mundo. De acuerdo con la Asociación Psiquiátrica Mexicana en 2014, en nuestro país existen aproximadamente un millón 100 mil pacientes con SZ (Asociación Psiquiátrica Mexicana 2014). Este grave trastorno se caracteriza por alteraciones de las funciones mentales y anomalías cerebrales, además que, se cree que surge de una combinación de factores genéticos, de desarrollo y ambientales (Tseng y cols, 2008).

El componente genético es altamente heredable, mayor al 80%, pero también se han descrito factores ambientales como la hipoxia fetal, traumas durante la infancia y el consumo de drogas, que interactúan con genes susceptibles para aumentar el riesgo de desarrollar SZ. Esta patología no es considerada mortal *per se*, sin embargo, aproximadamente el 10% de los pacientes que la padecen llegan a cometer suicidio (Andreasen, 2000; Wong y cols, 2003).

A pesar de los grandes esfuerzos de investigación que se realizan en el mundo actualmente sobre este trastorno, todavía no se tienen respuestas sobre cuestiones importantes como es la etiología y los tratamientos efectivos. (Miyamoto y cols, 2003).

3.1.2 Cuadro clínico: signos y síntomas.

El cuadro sintomático de la SZ se divide en tres categorías, caracterizándose en: síntomas positivos, negativos y cognitivos. Los síntomas positivos incluyen trastornos del pensamiento, alucinaciones, alteraciones en la percepción, y delirios. El trastorno del pensamiento denota en pacientes esquizofrénicos dificultades para ordenar sus pensamientos con lógica; las alucinaciones son percepciones de estímulos que en realidad no están presentes: los delirios son creencias claramente contrarias a los hechos (grandeza o control) (Carlson, 2005).

Los síntomas negativos se caracterizan por presentar aislamiento social, alogia (ausencia o disminución del lenguaje) , desorganización en el lenguaje, falta de iniciativa y perseverancia, anhedonia (incapacidad de experimentar placer), entre otros. Estos síntomas no son únicos de la SZ, observándose en trastornos neurológicos que implican daño cerebral, especialmente de los lóbulos frontales (Tseng y cols., 2009 ; Vázquez-Roque, 2012).

En cuanto a los síntomas cognitivos se describe una limitación en los procesos mnemónicos en pacientes con SZ (Brusco y cols, 2010), así como también dificultades de concentración y memoria, tales como falta de atención, lentitud de pensamiento y falta de percepción (comprensión y aceptación) del entorno.

3.1.3 Etiología.

No existe un factor etiológico único en la SZ, sino que su aparición depende de factores que afectan el genotipo y el fenotipo (Lozano, 2002). Se han desarrollado algunas

ideas sobre la etiología de la SZ, sin embargo, la comprensión sobre el origen de esta enfermedad sigue siendo difícil.

Una de las aportaciones más importantes relacionadas con la etiología de la SZ, ha sido la hipótesis dopaminérgica, la cual, en sus inicios, postuló el incremento de la actividad dopaminérgica cerebral de la vía mesolímbica. Se ha implicado a la corteza prefrontal y algunas estructuras límbicas en la fisiopatología de la SZ, ya que se piensa que estas estructuras contribuyen particularmente con el empeoramiento de los síntomas negativos y cognitivos y en menor medida, con la presencia de los síntomas positivos (Salud mental, 2014). Sin embargo, la teoría del neurodesarrollo ha tenido más validez en estos últimos años.

De acuerdo a Andreasen en el 2000, describe 4 hipótesis sobre el origen de la SZ:

1.- Las etiologías son múltiple: debido a que la prevalencia está distribuida uniformemente en espacio y tiempo, la etiología de la SZ no está vinculada a un lugar ni a un momento particular de la historia. En la mayoría de los casos, probablemente el origen ocurra tras múltiples factores con una acumulación de influencias genéticas y no genéticas, que van desde los genes codificados por el ADN hasta la exposición a toxinas o medicamentos, radiación, drogas, patógenos, lesiones cerebrales durante el nacimiento o después de éste, malnutrición o experiencias psicológicas que produzcan efectos somáticos como la exposición al estrés.

2.- La fisiopatología es una anomalía en la regulación y expresión del neurodesarrollo: la SZ difiere de las demencias clásicas en que no hay un marcador neuropatológico visible como cuerpos de Lewy y tampoco se presenta gliosis, que se ve como un marcador de muerte neuronal en enfermedades neurodegenerativas. Esto sugiere que la fisiopatología y la etiología deben estar relacionadas con un proceso de maduración o desarrollo cerebral (por ejemplo, formación de neuritas, sinaptogénesis, poda neuronal, apoptosis). Esto establece el período de tiempo para la etiología de la SZ como un tiempo entre el comienzo de la formación de neuronas y la migración. Aunque este es un período de tiempo largo, enfoca a sugerir la importancia de examinar los procesos moleculares que regulan y dan forma al desarrollo del cerebro y

los factores externos que pueden influir en éstos. La edad de inicio más típica es a fines de la adolescencia y principios de la segunda década de vida, un momento en que la maduración del cerebro está a término, sugiriendo que un componente de la etiología debe involucrar un proceso de desarrollo neurológico relacionado con estas etapas finales de la “escultura del cerebro”, como la poda neural o cambios dependientes de la actividad (experiencias psicológicas que afectan la plasticidad)

3.- La patología es de “conectividad neuronal”: la búsqueda de un “marcador” no ha tenido éxito. Posiblemente se ha buscado en el lugar equivocado. Las anomalías cerebrales que se han identificado en la SZ, han implicado múltiples regiones en todo el cerebro: corteza frontal, corteza temporal, tálamo, complejo del hipocampo, ganglios basales e incluso el cerebelo. Esto sugiere que la patología de la enfermedad probablemente no sea “localizable” en una sola región. Junto con la ausencia de un marcador neural patológico como placas y enredos, la investigación hasta la fecha sugiere que la patología puede involucrar circuitos neuronales distribuidos y sistemas neurotransmisores. Es decir, la SZ es “una enfermedad de conectividad neuronal”. Por lo que la búsqueda debe centrarse en los mecanismos que influyen, configuran y remodelan la conectividad neural a nivel de dendritas, espinas dendríticas, sinapsis, neurotransmisores y transductores de señales.

4.- El fenotipo es un metaproceso mental: cuando se interrumpe la conectividad y la comunicación dentro de los circuitos neuronales, los pacientes muestran diversas deficiencias en la cognición y diversos síntomas y signos de ésta enfermedad. Por lo que la SZ es una mala regulación del procesamiento de la información en el cerebro. Se han propuesto varios modelos diferentes para definir o describir este metaproceso mental que busquen identificar un solo proceso fundamental que defina la enfermedad. Esta estrategia puede ofrecer un método más poderoso para identificar los mecanismos neuronales y moleculares de la enfermedad.

3.1.4 Fisiopatología de la esquizofrenia.

Existen ciertas teorías para la SZ que involucran sistemas aberrantes de neurotransmisión, en particular, sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos y glutamatérgicos (Wong, 2003; Miyamoto y cols., 2003).

Dopamina:

La dopamina (DA) es uno de los neurotransmisores responsables de la génesis de la enfermedad, probablemente a la cual se propicia al modificar la función de otros sistemas de neurotransmisión. Cabe mencionar que un mismo sistema de neurotransmisión se puede regular en forma diferente en cada región del SNC; por ejemplo, en la SZ se ha propuesto un estado hipodopaminérgico en la corteza y un estado hiperdopaminérgico en las regiones subcorticales (Graff-Guerrero y cols., 2001).

La DA es un neuromodulador catecolaminérgico que participa en una gran variedad de funciones como la conducta motora, cognición, emoción, entre otras. (Missale y cols., 1998). Se especula que en la SZ hay una desregulación en la neurotransmisión dopaminérgica de la vía mesolímbica que generan un aumento del tono dopaminérgico sobre la interfase límbico-motora, dando así la sintomatología positiva. Esta hipótesis de la DA ha recibido soporte por análisis post-mortem donde se ha encontrado un incremento en los niveles de D2 en cerebros de pacientes esquizofrénicos. Sin embargo, algunos relacionan este aumento de niveles al tratamiento farmacológico más que una anomalía intrínseca de la SZ (Miyamoto y cols., 2003; Wong, 2003).

Existe evidencia de que en la SZ hay una anomalía en el sistema pre-sináptico de la DA que implica disfunción en el almacenamiento, transporte vesicular, liberación, recaptura y mecanismos metabólicos en los sistemas dopaminérgicos mesolímbicos (Miyamoto y cols., 2003; Carlson, 2005). Así también, se ha descrito una dismunución en la actividad de las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales a la corteza prefrontal (CPF), que resulta en una hipoestimulación de receptores D1 y se hipotetiza que este fenómeno es el responsable de los síntomas negativos y cognitivos (Tendilla, 2017).

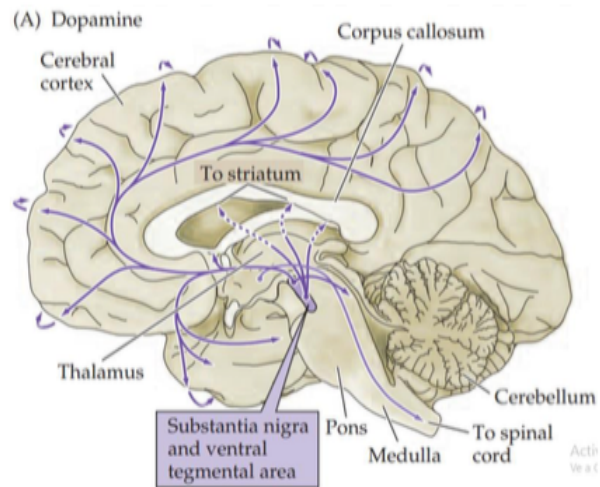


Figura 1.- Vías dopaminérgicas en el sistema nervioso central. Las neuronas de las rutas dopaminérgicas tienen axones que corren todo el trayecto de la vía. El soma produce dopamina, la cual es transmitida a través de los axones que se proyectan hasta los distintos destinos sinápticos (Imagen tomada de “Neurociencias” Purves y cols, 2009).

Estas vías pueden explicar los efectos terapéuticos y secundarios de los neurolépticos. Estas vías son cuatro: Nigroestriatal (va desde la sustancia negra a los ganglios basales, controla los movimientos). Mesolímbica (va desde el área segmentaria ventral del mesencéfalo al núcleo accumbens, está implicada en los delirios, alucinaciones y en la euforia de las drogas de abuso). Mesocortical (va desde el área tegmental a la corteza límbica, desempeña un papel en los síntomas cognitivos y negativos de la SZ). Vía dopaminérgica infundibular (va desde el hipotálamo a la glándula pituitaria anterior, controla la secreción de prolactina).

Serotonina:

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor implicado en las emociones, la conducta motora y el estado de alerta mental, sueño y vigilia. El deterioro de sus receptores se ha relacionado con diferentes trastornos psiquiátricos como la depresión y la ansiedad, por lo cual, los receptores de serotonina ocupan un lugar prominente en la

neurofarmacología, gran cantidad de agentes antipsicóticos que son útiles en el tratamiento de diferentes trastornos actúan sobre las vías serotoninérgicas (Stahl, 2013)

El sistema de neurotransmisión de la serotonina se ha estudiado en la SZ por un incremento de la densidad cortical del receptor 5-HT_{2A} y una disminución densidad del receptor 5-HT_{1A}. En general, la evidencia de anormalidades en el sistema primario de serotonina en la SZ no es tan fuerte como en el caso del sistema DA (Wong, 2003). Sin embargo, se ha observado que los antagonistas a receptores de 5-HT_{2A} generan un aumento en la DA de la CPF teniendo efecto sobre los síntomas cognitivos y negativos de la SZ (Tendilla , 2017).

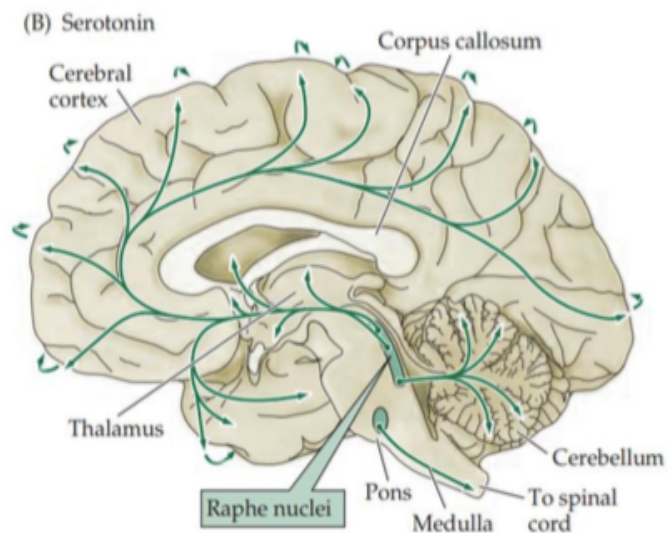


Figura 2. Vías serotoninérgicas en el sistema nervioso central. La mayor parte de la innervación serotoninérgica de la corteza y el sistema límbico se origina en el núcleo del Rafe dorsal y medio (Imagen tomada de “Neurociencias” Purves y cols, 2009).

Las neuronas serotoninérgicas están situadas en los núcleos del rafe y sus vías se proyectan a la CPF (regulan el estado de ánimo). Los ganglios basales. (intervienen en los movimientos y en las obsesiones-compulsiones). Sistema límbico (están implicadas en la ansiedad). Hipotálamo (influye en la conducta alimentaria). Centros del sueño del

tronco cerebral (regulan el sueño). Medula espinal (controla determinados reflejos de importancia en la respuesta sexual). Zona quimiorreceptora del tronco cerebral (interviene en el vómito). Receptores periféricos del intestino (interviene en la motilidad intestinal) (Goodman y Gilman, 2011).

3.1.5 Factores causales.

La SZ es una enfermedad heredable, pero esto no es absoluto. Probablemente lo que se hereda es una irregularidad que hace a la persona vulnerable ante ciertos factores ambientales que perjudican el desarrollo cerebral o que provocan daño cerebral en una etapa posterior a la vida. Esta patología se debe a una interacción entre factores genéticos y ambientales. Sin embargo, la ausencia de un “gen de la esquizofrenia” no garantiza que una persona no llegue a presentar SZ. Los datos epidemiológicos indican que la incidencia de la SZ se relaciona con varios factores ambientales: estación del año, epidemias víricas, densidad de población, latitud, malnutrición prenatal, incompatibilidad de RH y estrés de la madre (Carlson, 2005).

3.1.6 Teoría del neurodesarrollo y áreas implicadas.

Actualmente la etiología de la enfermedad sigue siendo idiopática, no existe una teoría que explique completamente el origen fisiopatológico, sin embargo, de las teorías existentes, la del neurodesarrollo es una de las más completas. Un punto de partida para trazar un mapa de la fisiopatología de la SZ puede comenzar con el reconocimiento de que se trata de un trastorno del neurodesarrollo (Insel 2010), en cual el proceso patológico ocurriría durante el desarrollo cerebral mucho antes que las manifestaciones clínicas (Saiz y cols, 2010).

La teoría del neurodesarrollo postula que la SZ es el resultado de una alteración producida durante el periodo del desarrollo neuronal, o cuyo origen sería genético, ambiental o por una combinación de ambos, que finalmente establecen la enfermedad con la aparición del primer episodio psicótico al final de la adolescencia o comienzo de

la edad adulta (Lewis y Levitt, 2002). Los eventos del desarrollo incluyen: diferenciación y migración de precursores neuronales, proliferación de dendritas y axones, muerte celular programada o apoptosis y poda sináptica y mielinización (Ashe y cols., 2001). Este modelo afirma que una predisposición genética aunada a agentes ambientales tempranos (infecciones virales y procesos inmunológicos entre otros) produciría alteraciones cerebrales (Saiz y cols, 2010). Si estos procesos ocurren en etapas tempranas del desarrollo, antes de que las conexiones sinápticas se completen, provocan conexiones aberrantes en la corteza cerebral que da lugar a síntomas de SZ (Stephan y cols, 2006).

Estudios de neuroimagen estructural de circuitos han demostrado que el procesamiento de información es anómalo en áreas clave del cerebro vinculadas a la sintomatología de ésta patología. De esta forma, puede demostrarse la vinculación de los síntomas cognitivos a la corteza prefrontal (CPF) y la relación entre los síntomas de desregulación emocional con la amígdala, además de otras alteraciones estructurales como el aumento en el tamaño de los ventrículos, reducciones de volumen del complejo hipocampo-amígdala y giro temporal superior, entre otros (Saiz y cols, 2010).

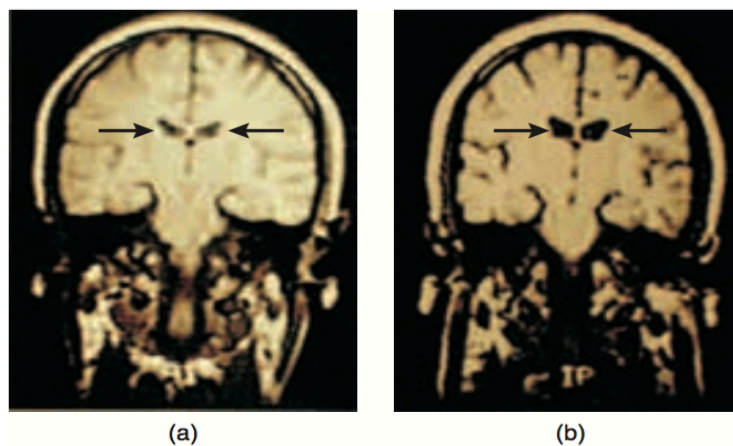


Figura 3. Imágenes de resonancia magnética de gemelos discordantes para la esquizofrenia. Las flechas señalan los ventrículos laterales, (a) gemelo normal, (b) gemelo con SZ.

3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

3.2.1 Terapia farmacológica en la esquizofrenia.

Los antipsicóticos han revolucionado la práctica médica y psiquiátrica, aportando beneficios mayores, por lo que son utilizados en gran medida a nivel mundial, no solo en tratamiento para la SZ, sino también para otros trastornos como delirio post-operatorio, intoxicación por anfetaminas, manías o depresión psicótica (Goodman, 2011). Los antipsicóticos típicos (AT) o de primera generación, usualmente producen síntomas extrapiramidales (parkinsonismo, discinesia tardía, entre otros), los cuales son consecuencia de la proporción del bloqueo del receptor de dopamina D_2 en el sistema dopaminérgico nigrostriatal (Kusumi y cols., 2014); los antipsicóticos atípicos (AA) o antipsicóticos de segunda generación se han utilizado principalmente para el tratamiento de la SZ, basados en el principio farmacológico del antagonismo de $5HT_{2A}/D_2$, han disminuido la probabilidad de causar síntomas extrapiramidales y no solamente son capaces de controlar los síntomas positivos, sino también de disminuir los síntomas negativos y anormalidades cognitivas (Vardanyan y cols, 2016).

Los datos farmacológicos sugieren que los síntomas de la SZ se deben a un trastorno bioquímico (Carlson, 2005), sin embargo, la introducción de la clozapina (descrito como el prototipo de AA (Vardanyan y cols, 2016) estimuló de manera profunda la búsqueda de agentes nuevos e inocuos con actividad antipsicótica y un riesgo atípicamente bajo de mostrar efectos extrapiramidales adversos en sistema nervioso. La búsqueda culminó en la obtención de una serie de AA que poseían semejanzas farmacológicas con la clozapina: olanzapina estructuralmente semejante y risperidona como antidopaminérgico y antiserotoninérgico mixto (Goodman, 2011).

3.2.2 Olanzapina.

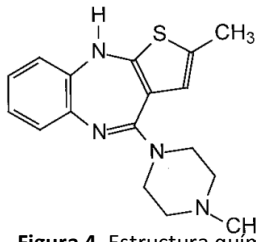


Figura 4. Estructura química de la olanzapina (Aravagiri y cols, 2000).

El desarrollo de la olanzapina (OLZ) comenzó con la alteración de la molécula de la clozapina para reducir los efectos adversos, cambiar metabolitos y aumentar la potencia farmacológica. El resultado fue un derivado de la tienobenzodiazepina, que se une con alta afinidad a los receptores de dopamina D₁, D₂ y D₄, receptores serotoninérgicos 5HT_{2A}, 5HT_{2C}, y 5HT₃, receptores α -adrenérgicos, receptores histamínicos y muscarínicos (Nihart y cols, 1997).

Farmacocinética de la olanzapina

Dentro de los parámetros farmacocinéticos, la OLZ tiene excelente biodisponibilidad oral, independiente de la presencia de alimentos; la unión a proteínas plasmáticas es de 93% (albúmina 90%) y atraviesa la membrana placentaria (~83% en forma inalterada). Su vida media en individuos sanos es de 33 horas, de 21 a 54 horas. La concentración plasmática es función de la dosis administrada; se metaboliza en hígado a metabolitos inactivos, sobretodo a 10-N-glucurónico, reacción catalizada por la enzima *uridín-difosfato-glucuronil-transferasa*; los metabolitos se excretan en orina (~57%) y en heces (~30%) (López, 2015).

Farmacodinamia de la olanzapina

La OLZ actúa en las vías neuronales mesolímbicas y nigroestriadas, es aproximadamente dos veces más potente frente a los receptores serotoninérgicos (5HT₂) que frente a los dopaminérgicos (D₂), actuando como antagonista de ambos y dándole un perfil bajo de efectos adversos de tipo extrapiramidal, esto debido a que puede aumentar la neurotransmisión dopaminérgica en la vía nigroestriada. Esta diferencia en la actividad explica porque la OLZ es efectiva frente a los síntomas negativos de la SZ (Nihart y cols 1997). Además da lugar a un mínimo incremento de prolactinemia, no se ha reportado agranulocitosis ni afecciones cardiovasculares. Sin embargo, los efectos adversos más comunes con OLZ son: ganancia de peso,

somnolencia, vértigo y efectos anticolinérgicos (estreñimiento y xerostomía) (López, 2015).

En general, la OLZ tiene muy alta afinidad por los receptores dopaminérgicos D1, D2 y D4, receptores serotoninérgicos 5-HT1A y 5-HT7, histamínicos H2, adrenérgicos α 1 y muscarínicos M1 (Aravagiri y cols, 2000).

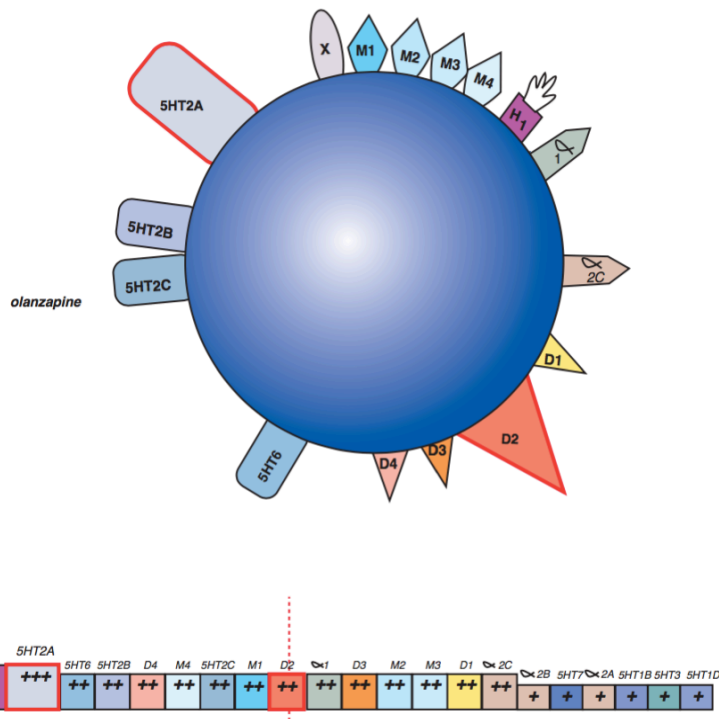


Figura 5. Perfil farmacológico y de unión de la olanzapina. Representación esquemática de las afinidades más relevantes (Stahl, 2013).

3.2.3 Risperidona.

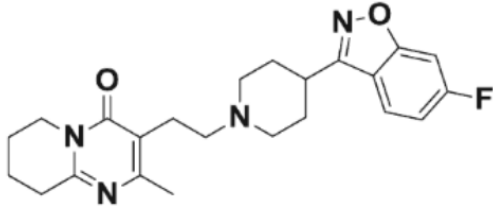


Figura 6. Estructura química de la risperidona
(Vardanyan y cols, 2016)

La risperidona (RISP) es un AA derivado del benzisoxazol sintetizado por Janssen Pharmaceutica Inc. En 1983 (aprobado por la FDA en 1993) (Janssen y cols, 1998) con la capacidad de mimetizar los efectos de la

clozapina, sin causar efectos secundarios. Es extensamente usado para el tratamiento de la SZ y tiene poca probabilidad de

producir efectos extrapiramidales como síndrome parkinsoniano, acatisia (sensación de temblor e incapacidad de permanecer sentado), acinesia (falta o pérdida del movimiento), entre otros (Tendilla-Beltrán y cols, 2019).

Farmacocinética de la risperidona.

Su biodisponibilidad es del 75%, alcanzando la concentración sérica máxima al cabo de 1 h. Es metabolizado en 30-70% en el hígado, dando lugar a un metabolito (9-hidroxi-risperidona) de igual potencia que la RISP, pero con mayor vida media que la RISP (20 horas para 9-OH-risperidona vs 3 horas para RISP) (Dammerman y cols, 2017). Es eliminado mayoritariamente con la orina, en un 40% en forma de fracción activa (RISP más metabolito activo). Su semivida de eliminación es de 3 h (Tendilla, 2017).

Farmacodinamia de la risperidona.

La RISP es un antagonista selectivo monoaminérgico con una elevada afinidad frente a los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, y dopaminérgicos D₁, D₂ y D₄, aunque también de receptores adrenérgicos α _{1A} y α _{2A}, de acetilcolina M₁ y de histamina H₁ (Janssen y cols, 1988). En la SZ están implicadas las vías serotoninérgicas y se considera que los efectos terapéuticos de la RISP se deben a la combinación de sus efectos antagonistas de la dopamina y la serotonina.

Éste fármaco antagoniza los receptores D2 sólo en el sistema límbico. Y al bloquear los receptores serotoninérgicos 5-HT2A, la RISP muestra otras propiedades farmacológicas, como es la mejoría ante los síntomas negativos, sin desarrollar síntomas extrapiramidales comparado con otros antipsicóticos de segunda generación (Stahl, 2013).

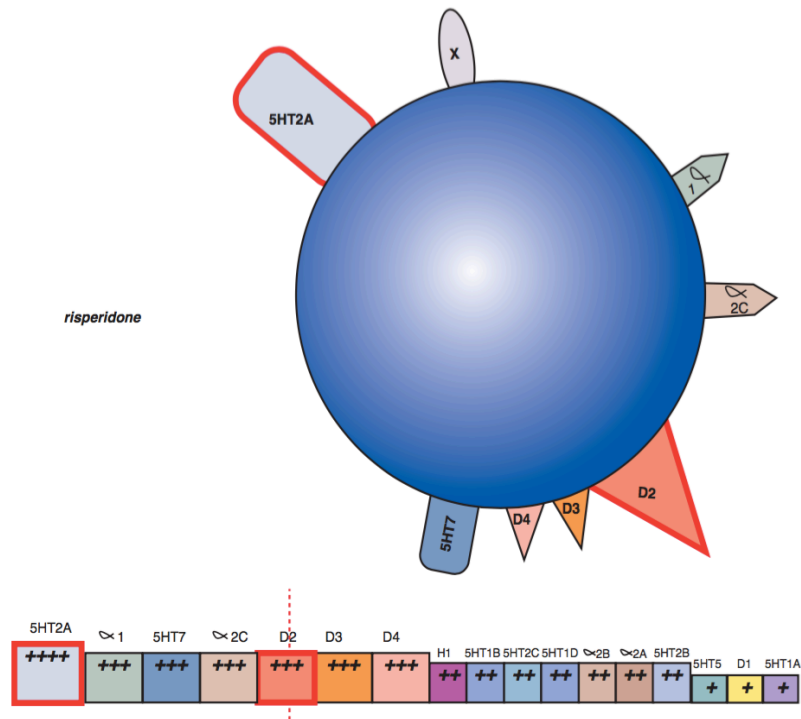


Figura 7. Perfil farmacológico y de unión de la risperidona. Representación esquemática de las afinidades más relevantes (Stahl, 2013).

3.2.4 Modelo de Lesión Neonatal del Hipocampo Ventral.

Los modelos animales son críticos para el avance en el conocimiento en cuanto a la neurobiología de los estados neuropsiquiátricos y para evaluar la eficacia del potencial de agentes terapéuticos (Brady 2016). A finales del siglo XX, los modelos animales de SZ eran predominantemente construcciones farmacológicas centradas en los fenómenos vinculados a los sistemas de neurotransmisores de dopamina y glutamato, logrados por perturbaciones directas en estos sistemas (Howes y cols, 2009). Una limitación heurística importante de estos enfoques fue que dejaron de lado una serie de características clave atribuidas a la SZ, como su patogénesis del desarrollo, sus déficits cognitivos, y el impacto en otros sistemas de neurotransmisores, y su neuroanatomía, más allá de los directamente manipulados. Por lo tanto, se necesitaron nuevos modelos heurísticos que abarcan una gama más amplia de características clínicas y neurobiológicas de la SZ para definir algunos mecanismos fisiopatológicos o las principales vías de neurotransmisores implicados en la enfermedad.

El modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral (LNHV) (Lipska y cols, 1993), se inspiró en un intento de captar aspectos prominentes de la SZ sin abordar los modelos farmacológicos. Varios estudios sugirieron que los estresores ambientales tales como las complicaciones obstétricas, las enfermedades infecciosas que afectan a las madres embarazadas en el segundo al tercer trimestre de la vida fetal o la malnutrición, conllevaban un mayor riesgo de SZ en la descendencia. Juntando estos elementos, se cumplen muchos de los requisitos para un modelo de SZ útil (Brady 2016).

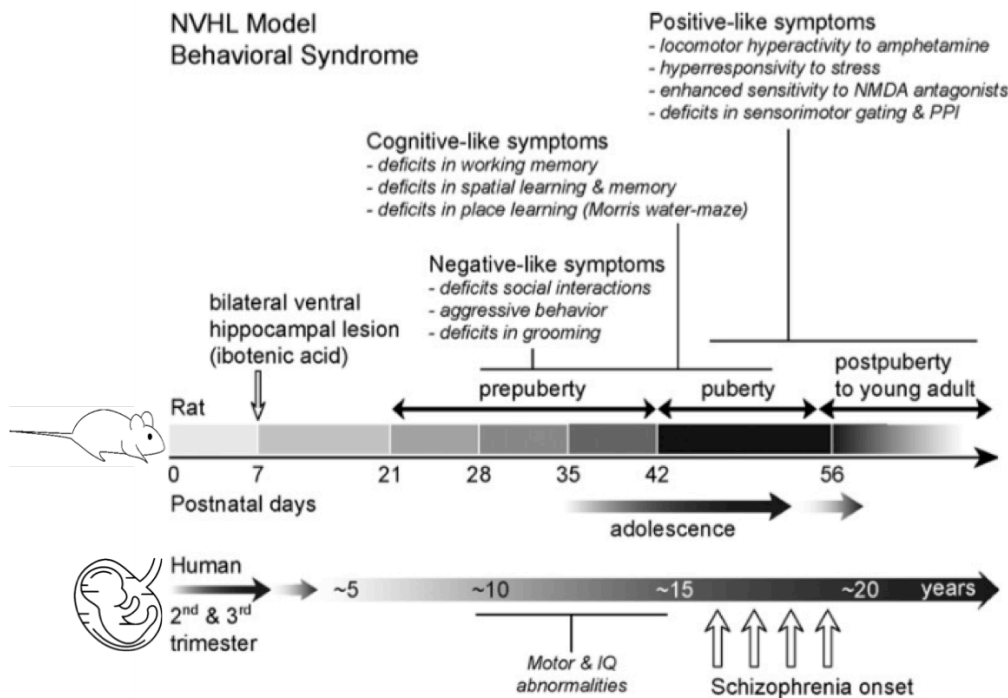


Figura 8. Línea de tiempo de la aparición de cambios de comportamiento después de la LNHV en la rata y una comparación con la aparición de síntomas en la SZ en humanos (Tomado de: Tseng y cols, 2009).

Se utilizaron de ratas de siete días posnatales (PD) (Montero y cols, 2002), debido a que este es un punto de tiempo comparable a las fases vulnerables del desarrollo del hipocampo fetal durante el segundo al tercer trimestre de los seres humanos. El hipocampo ventral en la rata corresponde al hipocampo anterior en humanos, una región que ha sido constantemente implicada en la SZ humana (Tensg y cols, 2009).

Como modelo heurístico del neurodesarrollo, la LNHV desencadena una serie de cambios conductuales, moleculares y fisiológicos que recuerdan una variedad de aspectos de la SZ que surgen en un momento particular de desarrollo, es decir, alrededor de la edad adulta / adolescencia (Haller y cols, 2014).

Algunos estudios indican que en las ratas con LNHV, no sólo manifiestan múltiples características clínicas del síndrome, sino que también se afectan el desarrollo y la función de múltiples sistemas cerebrales, incluyendo los lóbulos temporal, frontal medial, el estriado ventral y al sistema mesocorticolímbico. Antecedentes genéticos, factores ambientales y las intervenciones farmacológicas pueden modular todos los aspectos de comportamiento y neurobiológicos del síndrome de LNHV, lo que demuestra la utilidad de este modelo para explorar la interacción de diversos factores causales en la patogénesis de la enfermedad (Lipska y cols, 2000).

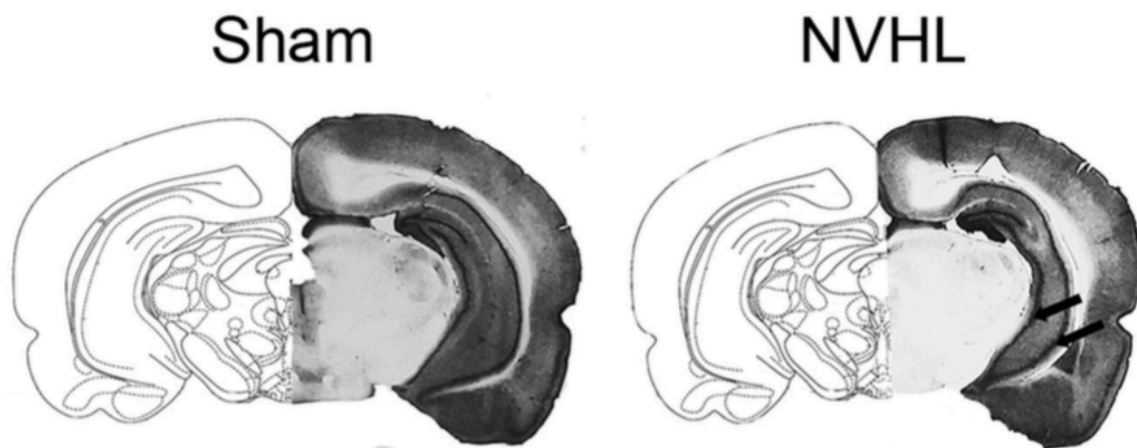


Figura 9. Fotografías representativas de cortes coronales de ratas con lesión falsa (sham) y lesión neonatal del hipocampo ventral (NVHL por sus siglas en inglés). Se muestra la retracción del tejido, la gliosis y la pérdida neural de las ratas con una lesión de hipocampo ventral neonatal después de la pubertad. Las flechas indican la zona de la lesión (Tendilla-Beltrán y cols., 2019; Vázquez-Roque y cols., 2011).

Debido a que la LNHV se realiza en una etapa crítica del neurodesarrollo, se sabe que este daño produce alteraciones conductuales a edad postpúber, las cuales se encuentran relacionadas con algunos síntomas expresados en la adolescencia en pacientes esquizofrénicos. Por ejemplo, los animales con LNHV a edad postpúber expresan anomalías como hipersensibilidad al estrés, disminución en la interacción

social, aumento en la actividad locomotora en ambiente novedoso y deficiencias en el aprendizaje y memoria (Flores y cols., 1996).

Se sabe que este modelo animal induce una disminución en la densidad y tipos de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza media prefrontal, así como también en la amígdala basolateral (Tendilla-Beltran y cols., 2019). De igual forma se ha determinado que las ratas con LNHV a edad postpúber expresan un incremento de la actividad locomotora posterior a la administración de anfetamina, así como una disminución de la inhibición de prepulso. Estas alteraciones han sido relacionadas con la transmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens (NACC), debido a que las neuronas del NACC muestran una mayor excitabilidad propiciada por la estimulación de las neuronas del área ventral tegmental (ATV) (Goto y Grace, 2008).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo a la Asociación Psiquiátrica Mexicana (2014) en México existen aproximadamente un millón 100 mil pacientes con SZ (Asociación Psiquiátrica Mexicana, 2014), enfermedad limitante y que merma la calidad de vida de quienes lo padecen, haciéndolos incapaces de llevar una vida autónoma, por lo que representa un grave problema de salud pública.

Estudios neurobiológicos en pacientes con SZ han demostrado anomalía en estructuras corticolímbicas, las cuales generan la sintomatología característica de la enfermedad. La lesión neonatal del hipocampo ventral provoca cambios cerebrales que generan un fenotipo asociado a la SZ, por lo que puede utilizarse como un modelo para el estudio de dicho padecimiento.

Los antipsicóticos atípicos OLZ y RISP son utilizados clínicamente para el tratamiento de la SZ, sin embargo, el mecanismo de acción de ambos fármacos no ha sido descrito completamente. Existe evidencia de que podrían tener efecto neurotrófico, por ello

resulta de interés evaluar el efecto de estas sustancias sobre las espinas dendríticas de la corteza prefrontal y la amígdala basolateral. Así pues, la comparación cuantitativa del efecto de ambos antipsicóticos sobre la caracterización de las espinas dendríticas de regiones corticolímbicas es de interés para la comprensión de los efectos de éstos antipsicóticos sobre la plasticidad neuronal.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Analizar el efecto de la administración de antipsicóticos atípicos sobre las alteraciones conductuales y morfológicas de espinas dendríticas en la corteza prefrontal y la amígdala basolateral ocasionadas por el modelo de la lesión neonatal del hipocampo ventral en rata.

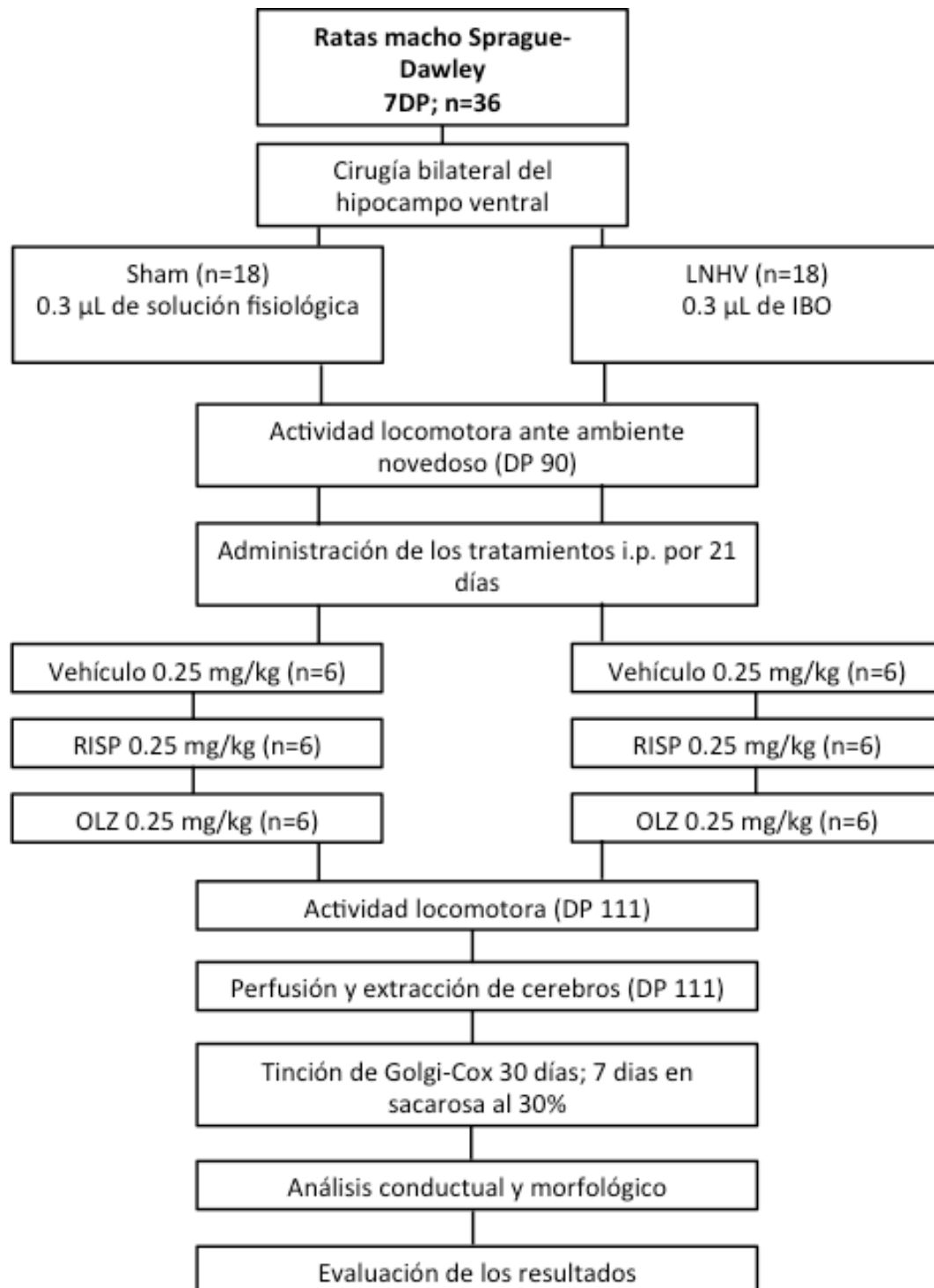
5.2. Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de la risperidona y olanzapina sobre las alteraciones motoras inducidas por el modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral en etapa postbúber
- Caracterizar el efecto de la olanzapina sobre la densidad de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal y la amígdala basolateral en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.

- Caracterizar el efecto de la risperidona sobre la densidad de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal y la amígdala basolateral en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.
- Evaluar el efecto de la olanzapina sobre la morfología de las espinas dendríticas en las neuronas piramidales de la corteza prefrontal y amígdala basolateral en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.
- Evaluar el efecto de la risperidona sobre la morfología de las espinas dendríticas en las neuronas piramidales de la corteza prefrontal y la amígdala basolateral en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diagrama de trabajo



6.2 Técnicas y procedimientos

Protocolo de la cirugía estereotáxica para inducir la lesión neonatal del hipocampo ventral.

Este proyecto fue avalado por el CICUAL de la BUAP y por las Normas Oficiales Mexicanas del uso y manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). Para realizar este protocolo de investigación se utilizaron 36 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley (SD) de 7 días posnatales (DP). Se crearon dos grupos, siendo estos el grupo lesión falsa o sham y el grupo LNHV, a los cuales se les realizará el siguiente procedimiento:

El método de anestesia fue inducido por hipotermia; después se realizó un corte sagital en el cráneo de 0.5 – 1 cm aproximadamente y posteriormente se colocó al animal en un aparato estereotáxico mediante un adaptador para ratas neonatales. Para lesionar la zona del hipocampo ventral, se utilizaron las siguientes coordenadas:

Antero-posterior: –3.0 mm respecto a bregma.

Medial-lateral: +/-3.5 mm respecto a bregma.

Dorso-ventral: –5 mm de la duramadre.

Luego, con una cánula de acero inoxidable se administró bilateralmente: 0.3 µl de ácido iboténico (IBO), el cuál es un neurotóxico utilizado como agente de lesión cerebral, a una concentración de 10 µg/µL disuelto en solución buffer de fosfatos (PBS) 0.1 M y ajustada a un pH de 7.4 para las ratas del grupo LNHV y PBS para las ratas del grupo lesión falsa. Esta aplicación se realizó por un periodo de 2 minutos, dejando la cánula por otro minuto más, para asegurar la correcta difusión de las sustancias. Concluidos estos procedimientos, se suturó la incisión y los cachorros se colocaron sobre una manta térmica para su recuperación (Lipska y cols., 1993).

Administración de los tratamientos farmacológicos

90 días posteriores a la lesión, los animales de los grupos Sham y LNHV se subdividieron en grupos dependiendo del fármaco que se aplicó; a la primera subdivisión se le aplicó OLZ (0.25 mg/kg diluida en solución fisiológica). A la segunda subdivisión se le aplicó RISP (0.25 mg/kg + PBS + 0.25% ácido acético). A la tercera subdivisión se le aplicó únicamente vehículo de solución salina (SSI) (0.25 mg/kg)

Posterior a los tratamientos farmacológicos, se procedió a realizar el sacrificio de los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico (60 mg/kg, i.p.) y la extracción de los cerebros. Para ello se realizaron primeramente una perfusión cardiaca con SSI por el ventrículo izquierdo, con el fin de remover toda la sangre posible de los vasos sanguíneos cerebrales.

Estudios conductuales

Actividad locomotora

La actividad locomotora es un protocolo que permite evaluar la actividad exploratoria del animal, y conocer de manera indirecta el tono dopaminérgico. Esta prueba se realizó antes y después del tratamiento, y para ello los animales se habituaron un día antes al animal al ambiente del laboratorio. La prueba se realizó por la mañana con una duración de 120 min.

Actividad locomotora en campo cerrado: las ratas se colocaron individualmente en cajas de acrílico negro con dimensiones de 22 x 22 x 44 cm durante 120 min. Dichas cajas poseen 8 pares de fotodiodos ubicados en las paredes laterales a 3 cm de la altura de la base, la interrupción de los haces de luz emitidos por los fotodiodos se considera como un movimiento que un actímetro contabilizó por 12 intervalos de 10 min (Flores y cols., 1996).

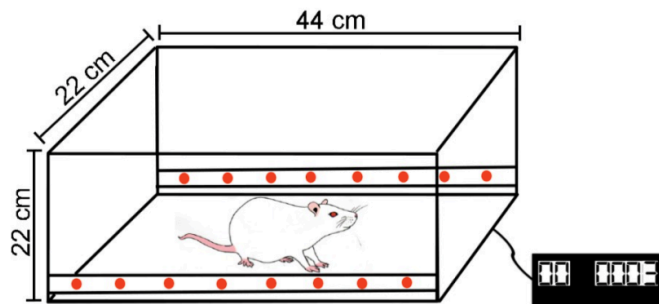


Figura 10. Caja de actividad locomotora. Se esquematizan las dimensiones y la posición de los 8 pares de fotodiodos, así como el actímetro que contabiliza las interrupciones de los haces de luz (Tendilla, 2017).

Actividad locomotora en campo abierto: las ratas se colocaron individualmente durante 10 min en una caja de madera de color negro (80 x 80 x 80 cm). Se evaluaron: *a)* número de cuadros cruzados, que fue cuando la rata pasó al menos 3 cuartas partes de su cuerpo de un cuadro a otro; *b)* tiempo en segundos empleado en la conducta vertical, es la suma de los periodos en los que la rata adquirió una postura vertical respecto al piso, apoyada en sus extremidades posteriores, y *c)* el tiempo en segundos empleado en el acicalamiento es la suma de tiempo en los que la rata se autoacicaló, lo cual incluyó la realización de movimientos elípticos con las extremidades anteriores sobre la narina, las orejas, el cuerpo y el área genital, en una dirección céfalo-caudal (Hernández-López y cols., 2016).

Estudios morfológicos

Tinción de Golgi-Cox.

Los cerebros extraídos se colocaron en solución Golgi-Cox ($K_2Cr_2O_7$ 170mM, $HgCl_2$ 200 mM, K_2CrO_4 200mM) para su almacenamiento en recipientes oscuros por 30 días, fuera de perturbaciones. Una vez transcurrido este periodo, se colocaron en solución de sacarosa al 30% por 7 días, para mejorar la consistencia a los cerebros y facilitar el corte.

Corte de tejido.

Se realizaron los cortes de los cerebros con ayuda de un vibratomo motorizado, obteniendo rebanadas de 200 μm que se colocaron en laminillas gelatinizadas.

Revelado y montaje.

Los cortes se revelaron en un cuarto oscuro llevando a cabo los siguientes pasos:

1. Sumergir 30 minutos en hidróxido de amonio (50%).
2. 10 lavados con agua destilada.
3. Sumergir 30 minutos en fijador rápido de Kodak (1:3).
4. 10 lavados con agua destilada.
5. Deshidratar el tejido sumergiéndolo en concentraciones crecientes de etanol: 10 minutos en etanol al 50%; 10 minutos en etanol al 70% 10 minutos en etanol al 90%; 10 minutos en etanol absoluto por dos ocasiones.
6. Aclarar el tejido sumergiéndolo 15 minutos en xileno.
7. Montar las laminillas con resina sintética.

Análisis morfológico de espinas dendríticas

Con ayuda del atlas Paxinos y Watson (1988) se localizaron las áreas de interés, en este caso, neuronas piramidales de la CPF capa V y la ABL, con buena impregnación, completas y aisladas que permitieran su reproducción bidimensional (Tendilla, 2017). Se dibujaron 10 segmentos dendríticos por cerebro, siendo 5 de cada hemisferio, todo esto con la ayuda de un microscopio óptico (Leica DSM100) el cual tiene acoplado una cámara lúcida que permite el trazo de la neurona a 100x (Tendilla-Beltran y cols., 2018).

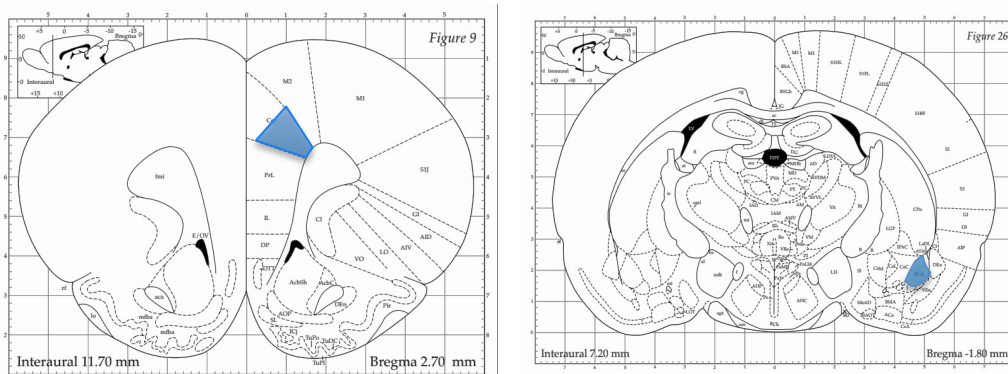


Figura 11. Localización neuroanatómica de la A) corteza prefrontal capa V y la B) amígdala basolateral. Esquema tomado del Paxinos y Watson, 1988.

Análisis de la densidad de espinas dendríticas.

Por medio de un microscopio óptico acoplado con una cámara lúcida, se realizó el análisis morfológico de las espinas dendríticas, dibujando segmentos de 5.4 cm, que es equivalente a 30 μm , de dendritas basales de último orden, de neuronas piramidales de la CPF capa V y la ABL, obteniendo 10 segmentos dendríticos por cada cerebro, todo esto a una amplificación de 100x. Para analizar los segmentos dendríticos trazados, se dividió cada dendrita en tres porciones de 1.8 cm (equivalentes a 10 μm), contabilizando en cada porción el número de espinas presentes, para al final obtener el promedio de los tres segmentos.

Tipificación de espinas dendríticas.

La tipificación de las espinas es una herramienta para estimar la población de cada espina de acuerdo con su forma. Así, se contabilizarán las espinas dendríticas con respecto a la morfología que presentan, siendo estas: delgada, hongo, gruesa, bifurcadas, ramificadas o sin clasificación. Con ayuda de un contador, se clasificarán de manera consecutiva las espinas dendríticas de la dendrita basal de último orden hasta obtener un total de 100 espinas. Luego se obtendrá el promedio de la proporción de cada tipo de espina dendrítica por cada cerebro.

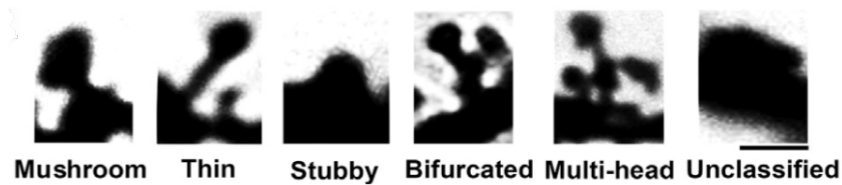


Figura 12. Fotomicrografías representativas de los tipos de espinas dendríticas de acuerdo a su morfología: hongo, delgadas, gruesas, bifurcadas, ramificadas (multi-cabeza) y sin clasificación (Tendilla-beltrán y cols., 2018).

7 RESULTADOS

7.1 Actividad locomotora

La actividad locomotora para el tratamiento con RISP se realizó en campo cerrado y se evaluó antes y después del tratamiento. En las pruebas pretratamiento se registra un aumento en la actividad de las ratas LNHV comparado con las del grupo Sham ($F(1, 44) = 4.989$; $p < 0.001$). Posterior al tratamiento con RISP se sigue observando un mayor número de movimientos por parte del grupo LNHV que fue tratado con vehículo ($F(1, 44) = 4.989$; $p < 0.001$). Sin embargo, el grupo LNHV con RISP logra revertir ésta alteración ($p < 0.05$).

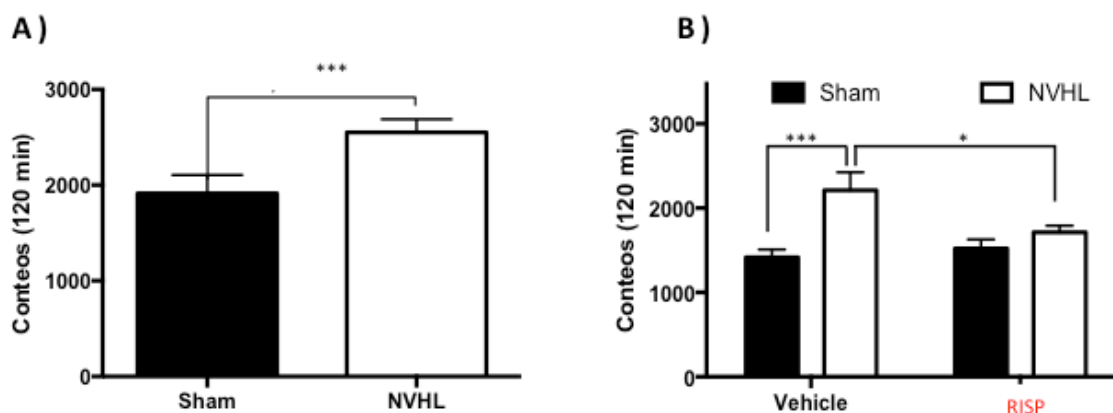


Figura 13. Actividad locomotora en tratamiento LNHV + RISP. A) evaluación pretratamiento y B) evaluación postratamiento, los valores indican la media del número de conteos en 120 min \pm EEM.

En el tratamiento con la OLZ se realizaron las pruebas en campo abierto y se registra un aumento en la actividad de las ratas LNHV comparado con las del grupo Sham ($F(1, 44) = 4.989$; $p < 0.001$). Posterior al tratamiento con OLZ se sigue observando un mayor número de movimientos por parte del grupo LNHV que fue tratado con vehículo ($F(1, 44) = 4.989$; $p < 0.001$). Sin embargo, el grupo LNHV con OLZ no genera cambios estadísticamente significativos.

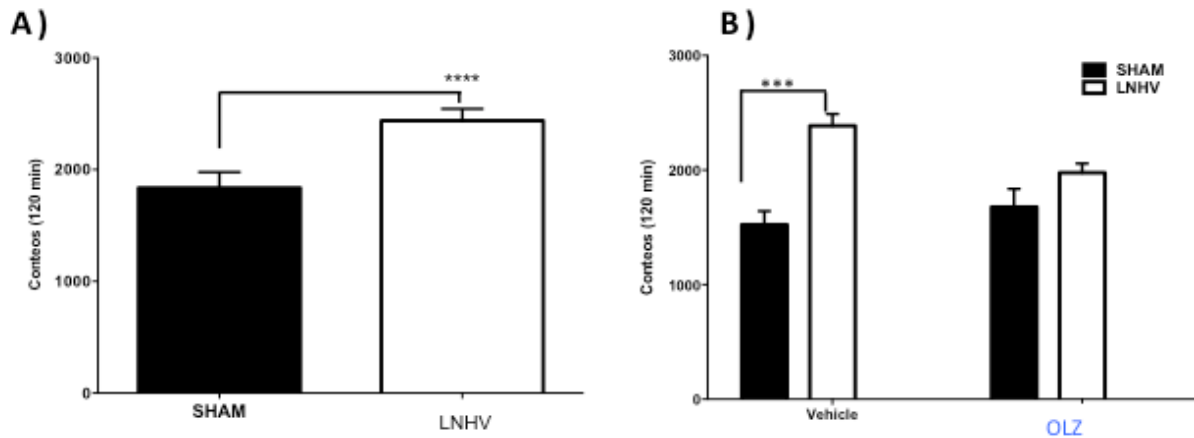


Figura 14. Actividad locomotora en tratamiento LNHV + OLZ. A) evaluación pretratamiento y B) evaluación postratamiento, los valores indican la media del número de conteos en 120 min \pm EEM.

7.2 Densidad de espinas dendríticas

Corteza prefrontal capa V: Con respecto a la densidad de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región CPF capa V, la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas ($F(2, 30) = 22.28$; $p < 0.0001$). Los tratamientos con RISP y OLZ consiguen revertir parcialmente dicha alteración por la lesión, RISP ($F(2, 30) = 0.2283$; $p < 0.001$), OLZ ($F(1, 30) = 7.812$; $p < 0.01$).

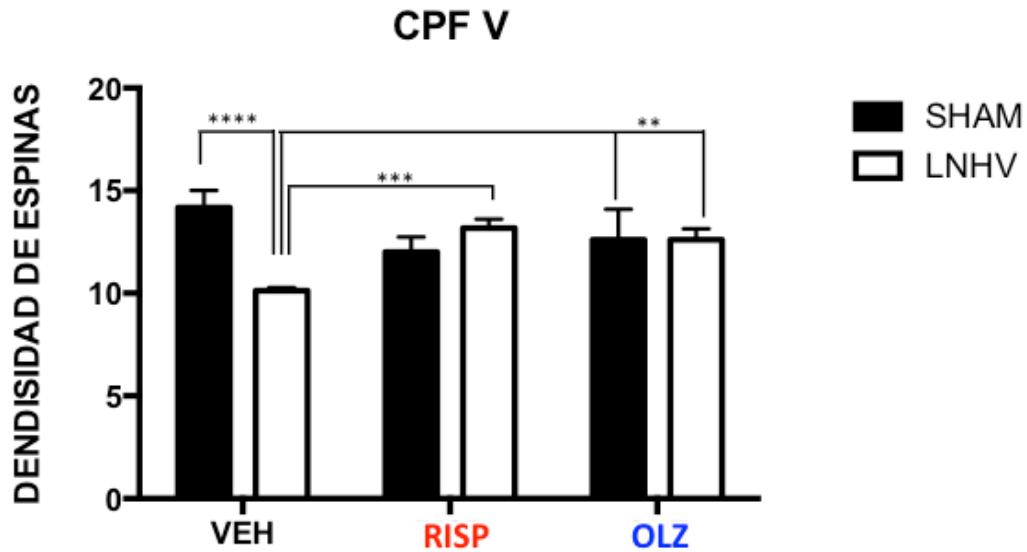


Figura 15. Análisis de la densidad de espinas dendríticas de la CPF capa V. Los tratamientos de RISP y OLZ recuperan el número de espinas dendríticas perdidas por la LNHV (n=6). El análisis estadístico fue análisis de varianza (ANOVA) de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

Amígdala basolateral: Con respecto a la densidad de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región ABL, la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas ($F(2, 30) = 26.74; p < 0.0001$). Los tratamientos con RISP y OLZ consiguen revertir parcialmente dicha alteración por la lesión, RISP ($F(2, 30) = 0.8445; p < 0.001$), OLZ ($F(1, 30) = 2.841; p < 0.001$).

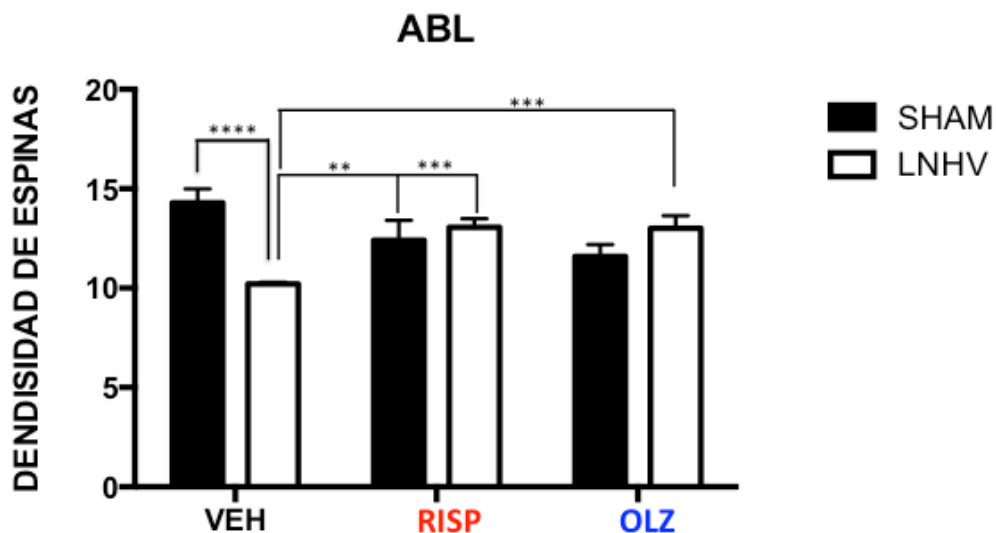


Figura 16. Análisis de la densidad de espinas dendríticas de la ABL. Los tratamientos de RISP y OLZ recuperan el número de espinas dendríticas perdidas por la LNHV (n=6). El análisis estadístico fue ANOVA de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

7.3 Tipificación de espinas dendríticas

Corteza prefrontal capa V: con respecto a los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región CPF capa V, la LNHV genera alteraciones en la morfología de las espinas dendríticas. Dichas alteraciones se ven modificadas cuando se empleó el tratamiento de antipsicóticos de segunda generación como lo son la RISP y la OLZ.

Resultados RISP: la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas de tipo hongo (df: 120; $F(15, 120) = 43.09$; $p < 0.0001$) y de tipo delgadas (df: 120; $p < 0.0001$) y un aumento en el porcentaje de espinas gruesas ($p < 0.001$). El tratamiento con RISP consigue revertir las alteraciones por la lesión, aumentando el porcentaje de espinas de tipo hongo (df: 120; $p < 0.0001$) y las de tipo delgadas ($p < 0.0001$), y reduciendo las del tipo gruesas (df: 120; $p < 0.0001$).

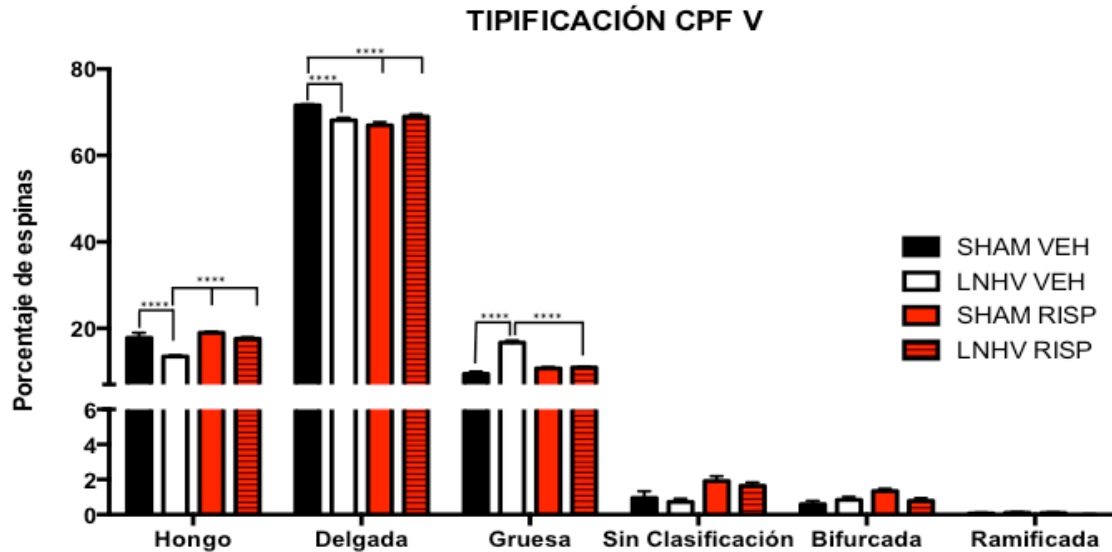


Figura 17. Análisis de los tipos de espinas en la CPF capa V + RISP. La LNHV provoca cambios en los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales de la CPF capa V, las cuales son aminoradas con el tratamiento de RISP; n=6. El análisis estadístico fue ANOVA de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

Resultados OLZ: los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región CPF capa V, la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas de tipo hongo (df:120; $F(15, 120) = 28.23; p < 0.0001$) y de tipo delgadas (df:120; $p < 0.0001$) y un aumento en el porcentaje de espinas gruesas (df:120; $p < 0.0001$). La aplicación de OLZ consigue revertir estas alteraciones provocadas por la lesión, aumentando el porcentaje de espinas de tipo hongo (df:120; $p < 0.0001$), aumentando las espinas delgadas ($p < 0.0001$) y reduciendo las del tipo gruesas (df:120; $p < 0.0001$).

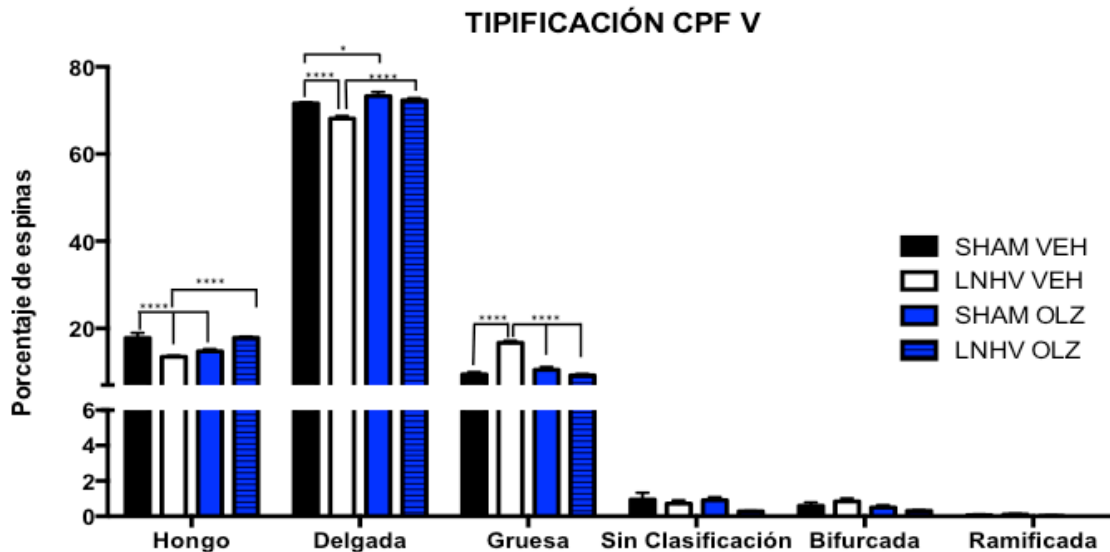


Figura 18. Análisis de los tipos de espinas en la CPF capa V + OLZ. La LNHV provoca cambios en los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales de la CPF capa V; n=6. El tratamiento con OLZ logra revertir dichas modificaciones morfológicas. El análisis estadístico fue ANOVA de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

Amígdala basolateral: los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región ABL, la LNHV genera modificaciones morfológicas de las espinas dendríticas. Dichas modificaciones se ven aminoradas con el empleo del tratamiento de antipsicóticos atípicos como lo son la RISP y la OLZ.

Resultados RISP: Con respecto a los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región ABL, la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas de tipo hongo (df:120; $F(15, 120) = 21.34; p < 0.05$) que el tratamiento con RISP logra llevar el porcentaje de espinas tipo hongo a niveles normales. Así también se presenta una disminución de espinas del grupo Sham tratadas con el antipsicótico.

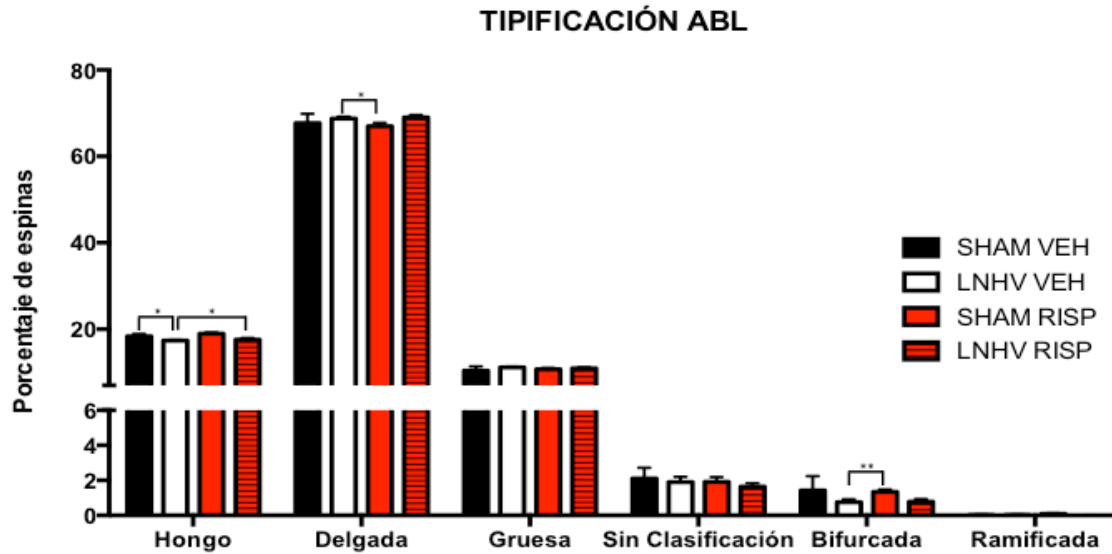


Figura 19. Análisis de los tipos de espinas en la ABL + RISP. La LNHV provoca cambios en los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales, las cuales son parcialmente aminoradas con el tratamiento de RISP; n=6. El análisis estadístico fue ANOVA de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

Resultados OLZ: a los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales en la región ABL, la lesión genera una disminución en la cantidad de espinas de tipo hongo ($F(15, 150) = 32.78; p < 0.0001$) y de tipo delgadas ($df:120; p < 0.0001$) y un aumento en el porcentaje de espinas gruesas ($df:120; p < 0.0001$), que el tratamiento con OLZ logra llevar el porcentaje de espinas tipo hongo a niveles normales ($p < 0.0001$), las delgadas también aumentan su porcentaje ($df:120; p < 0.0001$) y las espinas de tipo gruesas disminuyen en cantidad ($df:120; p < 0.0001$).

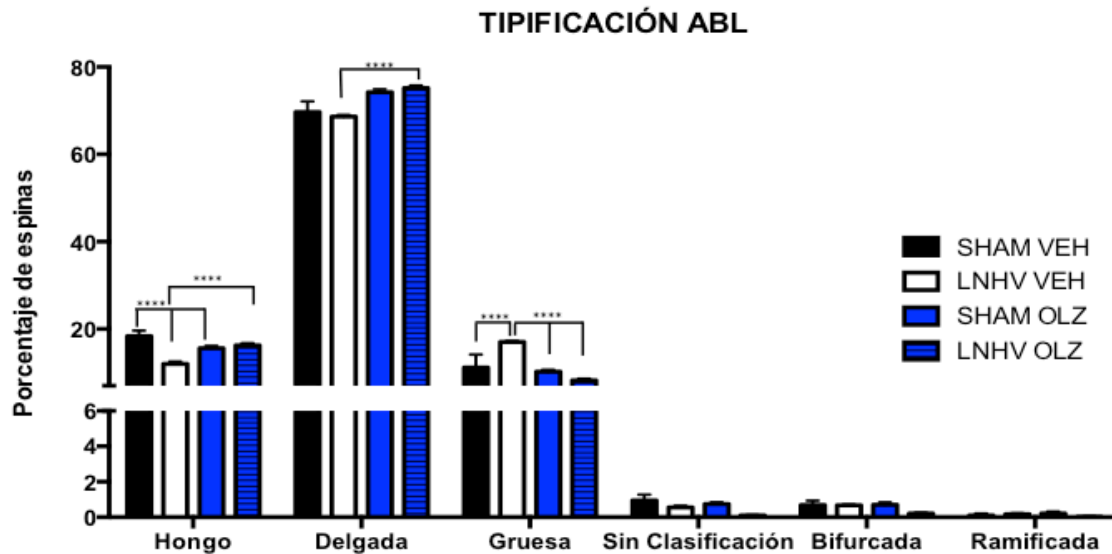


Figura 20. Análisis de los tipos de espinas en la ABL + OLZ. La LNHV provoca cambios en los tipos de espinas dendríticas de neuronas piramidales, las cuales son parcialmente aminoradas con el tratamiento de RISP; n=6. El análisis estadístico fue ANOVA de 2 vías, prueba Newman Keuls post hoc.

8 DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de dos antipsicóticos atípicos sobre la conducta y los cambios morfológicos neurales provocados por el modelo de LNHV en la cepa de rata Sprague-Dawley, modelo animal que está relacionado con la sintomatología de la SZ.

Existen varios reportes sobre las alteraciones conductuales que induce la LNHV en la etapa postpúber de la rata, como la hiperactividad locomotora (Lipska y cols., 1993; Bringas y cols., 2012; Vázquez-Roque y cols., 2012). La hiperactividad ante un ambiente novedoso está asociada al aumento en el tono dopaminérgico en el NAcc, sugiriendo una hiperactividad dopaminérgica de la vía mesolímbica debido a la LNHV (Flores y cols., 1996; Vázquez-Roque y cols., 2012; Tendilla, 2017), teniendo el mismo sustrato anatómico-funcional que la sintomatología positiva en los pacientes con SZ. La RISP actuando sobre receptores D2 logró modular el tono dopaminérgico en el estriado ventral y por ello se observó una disminución significativa en el número de movimientos

del grupo LNHV tratado con RISP comparado con el tratado con vehículo, sin tener efecto sobre las ratas con lesión falsa (Tendilla-Beltrán y cols, 2019). Por otro lado, la OLZ demostró tener una tendencia a la disminución de los movimientos sobre las ratas con LNHV, sin embargo, estos cambios no fueron estadísticamente significativos.

Estudios previos han demostrado alteraciones morfológicas en las espinas dendríticas en regiones del sistema mesocorticolímbico en ratas con LNHV en neuronas piramidales de la CPF capa V (Tendilla-Beltran y cols., 2018) y de la ABL (Bringas y cols., 2012). El modelo de LNHV provoca alteraciones en el cerebro que se asemejan a la SZ (Tseng y cols., 2009) Este modelo se basa en que una lesión en el hipocampo a edades tempranas del neurodesarrollo puede interrumpir el desarrollo del circuito cortical y subcortical en el está implicado el hipocampo (Wong, 2003; Tseng y cols., 2009; Lipska y Weinberger, 2000).

El empleo de la RISP como un antipsicótico capaz de revertir las alteraciones presentes en enfermedades psiquiátricas como la SZ, se ha fundamentado en diversos estudios, demostrando que participa en procesos de neuroprotección y modificaciones morfológicas positivas, al aumentar los niveles de TrkB-FL (isoforma más abundante en la neocorteza de receptores Trk), cuando BDNF (Factor neurotrófico derivado del cerebro) interactúa con TrkB-FL, promueve la espinogénesis (Tendilla-Beltran y cols., 2019; Ryan y cols., 2013; Tseng, 2009). Estos trabajos coinciden con lo encontrado en este trabajo, siendo una disminución en las espinas dendríticas por el daño provocado por la LNHV en la CPF capa V ($p < 0.0001$) y ABL ($p < 0.0001$) que se logra revertir con el tratamiento subcrónico de RISP por 21 días y evaluado en ratas postpúber con LNHV en ambas áreas: CPF capa V ($p < 0.001$) y ABL ($p < 0.001$), demostrando la capacidad de la RISP de promover la regeneración sináptica (Tendilla-Beltran, 2019).

Así mismo, la LNHV provocó en la CPF capa V un decremento en espinas dendríticas inmaduras que son de tipo delgadas ($p < 0.0001$), una disminución de espinas dendríticas de tipo hongo ($p < 0.0001$) y un aumento en el porcentaje de espinas gruesas ($p < 0.0001$), en la ABL se desencadenó una disminución de las espinas de tipo

hongo ($p < 0.05$). El tratamiento fue efectivo y coincide con lo ya reportado, siendo en la CPF capa V un restablecimiento en los porcentajes de espinas delgadas ($p < 0.0001$) y de hongo ($p < 0.0001$), y una disminución en la proporción de las gruesas ($p < 0.0001$); en la ABL un incremento en los porcentajes de espinas hongo ($p < 0.05$), así también se observa una disminución en las espinas delgadas ($p < 0.05$) en el grupo Sham tratado con RISP, se especula que esto puede deberse a que este antipsicótico reduce el óxido nítrico (NO) en las ratas sin lesión del hipocampo, lo que generaría una disminución de la enzima superóxido dismutasa y por lo consiguiente un cambio en la acción neuroprotectora del fármaco y la neurogénesis (Bringas, 2012; Micó, 2004; Verdanyan, R. y cols., 2016).

El uso de OLZ para el tratamiento de la sintomatología de la SZ se ha reportado en varios estudios (Fumagalli y cols., 2006; Johnson, 2011; Nihart y cols., 1997), pues supone como un agente capaz de promover una respuesta de protección y reparación del daño neural presente en la SZ (Miyamoto y cols., 2003; Wong, 2003). Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo reportado, siendo que en la CPF V ($p < 0.0001$) y en la ABL ($p < 0.0001$) se distingue un decremento en el número de espinas dendríticas como consecuencia de la LNHV, (Tendilla-Beltrán y cols., 2019; Bringas y cols., 2012), tal que el tratamiento de 21 días de OLZ logra llevar los resultados a índices normales, teniendo mejorías en las dos áreas, CPF capa V ($p < 0.01$) y ABL ($p < 0.001$).

En cuanto a los resultados de la morfología de las espinas dendríticas, encontramos que los efectos provocados por la LNHV, que son en la PFC capa V la disminución de espinas tipo hongo ($p < 0.0001$), decremento del tipo delgadas ($p < 0.0001$) y aumento del porcentaje de las tipo gruesas ($p < 0.0001$), y en la ABL una disminución de las espinas hongo ($p < 0.0001$) y aumento de las tipo gruesas ($p < 0.0001$). Dichas alteraciones se ven revertidas después del tratamiento con OLZ, en la CPF capa V mejorando al incrementar los porcentajes de espinas delgadas ($p < 0.0001$) y espinas hongo ($p < 0.0001$), además de disminuir la cantidad de espinas de tipo gruesas ($p < 0.0001$). En la ABL se distingue una mejoría a esta patología al aumentar las espinas de tipo hongo

($p < 0.0001$) y decrementar las espinas de tipo gruesas ($p < 0.0001$). Las espinas de tipo delgadas son las espinas inmaduras que se convertirán en las de tipo hongo, las cuales son funcionales, sin embargo las alteraciones en la morfología como en las de tipo hongo indican una mala conexión y comunicación neural, por lo que el incremento de éstas es contraproducente. La administración de los antipsicóticos mejoró la cantidad de espinas de tipo hongo y por lo tanto la comunicación interneuronal.

9 CONCLUSIÓN

1. La RISP mejora la hiperactividad locomotora en ratas con LNHV al reducir el número de movimientos tras la administración de 0.25 mg/kg.
2. La administración de 0.25 mg/kg de OLZ muestra una tendencia a la disminución de los movimientos en la prueba de actividad locomotora en ratas con LNHV.
3. La lesión neonatal del hipocampo ventral provoca alteraciones a edad postpúber en la densidad y morfología de las espinas dendríticas en regiones del sistema corticolímbico.
4. La administración de 0.25 mg/kg de risperidona revierte la hipotrofia dendrítica y las alteraciones morfológicas generadas por la lesión neonatal del hipocampo ventral en las neuronas piramidales de la corteza prefrontal capa V y la amígdala basolateral, regiones asociadas a las anomalías morfológicas del modelo.
5. El tratamiento con olanzapina a dosis de 0.25 mg/kg incrementa la densidad de espinas dendríticas y modifica la forma de éstas, en la corteza prefrontal capa V y amígdala basolateral de las ratas macho con lesión neonatal del hipocampo ventral, mejorando las alteraciones inducidas por la LNHV.

10 PERSPECTIVAS

En el presente trabajo se han expuesto las modificaciones que fármacos antipsicóticos como la OLZ y la RISP, ejercen sobre las alteraciones neuromorfológicas y conductuales en ratas con LNHV. Sin embargo el alcance de nuestro trabajo a futuro es aún mayor puesto que se proponen realizar numerosos estudios que evalúen:

- i. Uso de marcadores moleculares que permitan profundizar aún más sobre el efecto a niveles de receptores de membrana neuronal (inhibidores o excitadores).
- ii. Uso de electroencefalografía para evaluar la actividad cerebral al administrar los fármacos.
- iii. Identificar algunas proteínas que podrían estar afectadas a nivel de las sinapsis en las espinas como la PSA-NCAM y sinaptofisina, debido a la LNHV.
- iv. Realizar estudios de biología molecular buscando proteínas y factores de transcripción asociados al reordenamiento del citoesqueleto y la supervivencia celular en las regiones de interés con la intención de describir las vías que están alteradas debido a la LNHV y el efecto de la RISP y la OLZ sobre ellas.

11 BIBLIOGRAFÍA

Asociación Psiquiátrica Mexicana (2014) Guía basada en la evidencia de la Asociación Psiquiátrica de América Latina y de la Asociación Psiquiátrica Mexicana para el tratamiento del paciente con esquizofrenia. I Etiología y fisiopatogenia. *Salud Mental* 37(1):3-38.

Andreasen, N.C. (2000). Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Research Reviews* Vol. 31, Issues 2-3. doi: 10.1016/S0165-0173(99)00027-2

Ashe, P.C., Berry M.D., Boulton, A.A. (2001). Schizophrenia, a neurodegenerative disorder with neurodevelopmental antecedents. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* Vol 25, Issue 4 P(691-707). doi: 10.1016/S0278-5846(01)00159-2

Aravagiri, M., Teper, Y., Mardar, S. R. (2000) Pharmacokinetics and tissue distribution of olanzapine in rats. *Biopharm. Drug Dispos.* 20: 369–377 (1999). Doi: 10.1002/1099-081x(199911)20:8<369::aid-bdd200>3.0.co;2-6

Benes, F.M. (2009). Amygdalocortical circuitry in schizophrenia: from circuits to molecules. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 35, 239-257. doi: 10.1038/npp.2009.116

Brady, A.M. (2016). The neonatal ventral hippocampal lesion (NVHL) rodent model of schizophrenia. *Curr. Protoc. Neurosci.* 77:9.55.1-9.55.17. doi: 10.1002/cpns.15

Bringas, M. E., Morales-Medina, J.C , Flores- Vivaldo, Y., Negrete-Díaz, J. V., Aguilar-Alonso, P., León- Chávez, B. A., Lazcano-Ortiz, Z., Monroy, E., Rodríguez-Moreno, A., Quirion, R., Flores, G. (2012) Clozapine administration reverses behavioral, neuronal, and nitric oxide disturbances in the neonatal ventral hippocampus rat. *Neuropharmacology* 62:1848-1857.

Brusco, J., Dall'Oglio, A., Rocha, L. B., Rossi, M. A., Moreira, J. E., Rasia-Filho, A. A (2010). Descriptive findings on the morphology of dendritic spines in the rat medial amygdala. *Neuroscience letters* 483, 2010, 152-156, DOI: 10.1016/j.neulet.2010.07.083

Carlson, N.R. (2005). Esquizofrenia y trastornos afectivos. En Fisiología de la conducta (572-590). España: Addison Wesley.

Dammerman, R., Kim, S., Adera, M., Schwarz, A. (2017). Pharmacokinetics and safety of risperidone subcutaneous implants in stable patients with schizophrenia. *The American College of Clinical Pharmacology* 2018,00(0) 1-13; Doi: 10.1002/cpdd.428

Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial de la Federación NOM-062-ZOO-1999

Flores, G., Wood, G.K., Liang, J. J., Quirion, R., Srivastava, L. K., 1996. Enhanced amphetamine sensitivity and increased expression of dopamine D2 receptors in postpubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex. *J. Neuroscience* 16: 7366-7375.

Fumagalli F., Frasca A., Spart`a M., Drago F., Racagni G, Riva MA. 2006. Long-Term Exposure to the Atypical Antipsychotic Olanzapine Differently Up-Regulates Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2 Phosphorylation in Subcellular Compartments of Rat Prefrontal Cortex. *Molecular Pharmacology*. 69:1366–1372.

Graff-Guerrero, A., Apiquian, R., Fresán, A., García-Anaya, M. (2001). Perspectiva neurobiológica de la esquizofrenia. *Salud Mental*, Vol. 24, No. 6. pp (36-42).

Goodman, L.S., Gilman, A. (2011). 5-hidroxytryptamine (serotonin) and dopamine. En *The pharmacological basis of therapeutics* (351-359). Estados Unidos de América: Mc Graw Hill.

Haller, C. S., Padmanabhan, J. L., Lizano P., Torous, J., Keshavan, M (2014). Recent advances in understanding schizophrenia. *Facultu Reviews*, 2014, 53-57, DOI: 10.12703/P6-57

Hernández-López, F., Rodríguez-Landa, J. F., Puga-Olguína, A., Germán-Ponciano, L-J., Rivadeneyra-Domínguez, E. y Bernal-Morales, B. (2016). Análisis de la actividad y coordinación motora en ratas con cirugía estereotáxica e implante de cánula en el hipocampo dorsal. *Neurología*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2016.03.004>

Howes, O. D., Kapur, S (2009). The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III - The Final Common Pathway. *Schizophrenia Bulletin*, 2009, 549-562, DOI: 10.1093/schbul/sbp006

Insel, T.R. (2010). Rethinking schizophrenia. *Nature*; Macmillan Publishers Limited. Vol 468, 187-193. doi: 10.1038/nature09552

Janssen PA, Niemegeers CJ, Awouters F, Schellekens KH, Megens AA, Meert TF (1998). Pharmacology of risperidone (R64766), a new antipsychotic with serotonin-S2 and dopamine-D2 antagonistic properties. *J Pharmacol Exp Ther* , 1988, 244(2):685-693

Johnson, M., Kozielska, M., Reddy VP., Vermeulen, L. C., Grimwood, S., Greef, R., Groothuis, M. M., Danhof, M., Proost, J. H. 2011. Martin Johnson & Magdalena Kozielska & Venkatesh Pilla Reddy & An Vermeulen & Cheryl Li & Sarah Grimwood & Rik de Greef & Geny M. M. Groothuis & Meindert Danhof & Johannes H. Proost. *Pharm Res*. 28:2490–2504

Kusumi, I., Shuken, B., Yoshito T. 2014. Psychopharmacology of atypical antipsychotic drug: from the receptor binding profile to neuroprotection and neurogenesis. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2015; 69: 243-258. doi: 10.1111/pcn.12242

Lewis, D.A., Levitt P. (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci.* 2002;25:409-32. doi:10.1146/annurev.neuro.25.112701.142754

Lipska B.K., Jaskiw GE, Weinberger DR (1993). Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharm*, 1993, 9:67-75.

Lipska, B.K., Weinberger, M.D. (2000). To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 2000 Sep;23(3):223-39, Vol.23, No.3 . doi: 10.1016_S0893-133

López T., J.M. (2015). Olanzapina: informe técnico. Florentino Ballesteros, 11-13 50002 Zaragoza.

Lozano, J.A. (2014). Etiopatogenia, síntomas y tratamiento de la esquizofrenia. *Offarm* 2014 Vol. 21 No.9 (104-114).

Meyer, J.S., Quenzer, L.F. (2004) Schizophrenia. En *Psychopharmacology* (442-469). Estados Unidos de América: Sinauer associates, Inc.

Micó, J.A. 2004. Neurogénesis y antipsicóticos: posibles repercusiones clínicas y terapéuticas. *Congreso Colombiano de Psiquiatría Biológica.* 6: 50-62.

Miyamoto, S., LaMantia, A. S, Duncan, G. E, Sullivan. P., Gilmore, J. H, Lieberman J. A. 2003. Recent Advances in the Neurobiology of Schizophrenia. Mental Health and Neuroscience Clinical Research Center, School of Medicine University of North Carolina, *Chapel Hill.* 3: 27-39

Montero, A. P., Balderas, T., Pereira, M., Lizano, A., Armas, R., Medina, R., Contreras, S., DAssari, A., Katz, I (2002). Resultados de la categorización de una muestra

de pacientes con diagnóstico de egreso de esquizofrenia .*Acta méd. costarric* vol.44 n.2 San José Jun., 2002.

Nihart M.A., RN, CS, MA. (1997). Atypical antipsychotics and the pharmacology of olanzapine. *Journal of the american psychiatric nurses association*. Vol.3, No.1. doi: 1078-3903/97

Paxinos, G., Watson, C. (1998) The rat brain stereotaxic coordinates. 4th ed. Apnet. 474.

Ryan, R. T., Bhardwaj, S.K., Tse, Y.C., Srivastava, L.K., Wong, T.P. (2013) opposing alterations in excitation and inhibition of layer 5 medial prefrontal cortex pyramidal neurons following neonatal ventral hippocampal lesion. *Cereb Cortex* 23:1198–1207.

Saiz, J., De la Vega, D.C., Sánchez, P. (2010). Bases neurobiológicas de la esquizofrenia. *Clínica y Salud* Vol. 21, No.3, 2010 – P.235-254. doi:10.5093/cl2010v21n3a3

Salud Mental (2014). Etiología y Fisiopatogénia. En *Atlas de Salud Mental*. Vol 37, suplemento 1 (s1-s38).

Stahl, S.M. (2013). Antipsychotic agents. En *Stahl's essential psychopharmacology* (175-213). Estados Unidos de América: Cambrigde University Press.

Stephan, K.E., Baldeweg, T., Friston, K.J. (2006) Synaptic plasticity and disconnections in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2006 May 15;59(10):929-39. doi: 10.1016/j.bio`sychn.2005.10.005

Tendilla, H., Meneses, S (2017). Efecto de los neurolépticos (Risperidona) sobre las alteraciones morfológicas y conductuales inducidas por la Lesión neonatal del hipocampo ventral en la rata: implicaciones en la esquizofrenia. Protocolo presentado

por el Instituto de fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Tendilla-Beltran, H., Vázquez-Roque, R. A., Vázquez-Hernández, A. J., Garcés-Ramírez, L., Flores, G. (2018). Exploring the Dendritic Spine Pathology in a Schizophrenia-related Neurodevelopmental Animal Model. *Neurosci.* 396 (2019) 36 – 45; Doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.11.006

Tendilla-Beltran, H., Meneses-Prado, S., Vázquez-Roque, R. A., Tapia-Rodríguez, M., Vázquez-Hernández, A. J., Coatl-Cuaya, H., Martín-Hernández, D., MacDowell, K. S., Garcés-Ramírez, L., Leza, J. C., Flores, G. (2019). Risperidone Ameliorates Prefrontal Cortex Neural Atrophy and Oxidative/Nitrosative Stress in Brain and Peripheral Blood of Rats with Neonatal Ventral Hippocampus Lesion. *The Journal of neuroscience* – 39(43):8584-8599; Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1249-19.2019

Tseng, Y. K., Chambers, R. A., Lipska, B. K (2008). The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *B, Behav Brain Res*, 2008, 296-302, doi: 10.1016/j.bbr.2008.11.039

Vázquez-Roque, R. A., Ramos, B., Tecuatl, C., Juárez, I., Adame, A., De la Cruz, F., Zamudio, S., Mena, R., Rockenstein, E., Masliah, E and Flores, G. (2011) Chronic Administration of the Neurotrophic Agent Cerebrolysin Ameliorates the Behavioral and Morphological Changes Induced by Neonatal Ventral Hippocampus Lesion in a Rat Model of Schizophrenia. *Journal of Neuroscience Research* 90:288–306 (2012). Doi: 10.1002/jnr.22753

Vázquez-Roque RA, Ramos B, Tecuatl C, Juárez I, Adame A, de la Cruz F, Zamudio S, Mena R, Rockenstein E, Masliah E, Flores G. (2012) Chronic administration of the neurotrophic agent cerebrolysin ameliorates the behavioral and morphological changes induced by neonatal ventral hippocampus lesion in a rat model of schizophrenia. *J Neurosci Res* 90:288-306.

Verdanyan, R., Hruby, V. (2016). Antipsychotics. En: *Synthesis of Best-Seller drug* (88-105). Estados Unidos de América. doi: 10.1016/B978-0-12-411492-0.00006-7

Wong, A.H., Van Tol, H.H. (2003). Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neurosci. Biobehav Rev.* 2003 May; 27(3): 269-306. doi: 10.1016/S0149-7634(03)00035-6