

O-57

### LA LIBERACIÓN DE SEROTONINA DEL "CORE" DEL NÚCLEO ACCUMBENS, PERO NO DEL "SHELL", JUEGA UN PAPEL CRÍTICO EN LA RECOMPENSA OPIÁCEA

Emilio Fdez. ESPEJO, João-Paulo MORAES

Depto. de Fisiología Médica y Biofísica. Universidad de Sevilla. Sevilla.

La neurotransmisión serotoninérgica general del núcleo accumbens participa en los fenómenos de recompensa a opiáceos, pero el papel preciso de la serotonina (5-HT) en las regiones "core" y "shell" del núcleo en tales fenómenos apetitivos no se conoce. El objetivo fue discernir los efectos sobre la recompensa inducida por morfina de la depleción selectiva de 5-HT en el "core" y "shell" del núcleo accumbens, mediante la infusión de 5,7-dihidroxitriptamina. La recompensa opiácea se evaluó con un laberinto de preferencia de lugar de tres brazos, y los cambios monoaminérgicos en el "core" y "shell" del núcleo accumbens se cuantificaron in vivo mediante voltametría pulsada diferencial y postmortem mediante HPLC. La zona de registro voltamétrico se evaluó histológicamente. Los resultados indicaron que la depleción de 5-HT del "core" (85%) anuló la recompensa opiácea ( $p < 0.01$ ), a dosis bajas de morfina (100 and 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  SC), pero la lesión del "shell" no tuvo efecto alguno. Los voltamogramas in vivo indicaron que, en ratas control, la morfina estimuló la liberación de dopamina (DA) en el "shell" pero no en el "core", confirmando que los efectos apetitivos de la morfina se relacionan con cambios dopaminérgicos en el "shell". La liberación de 5-HT se estimuló en ambas regiones. Por otra parte, en ratas lesionadas, la administración de morfina también incrementó la liberación de DA en el "shell" pero no en el "core", mientras que la 5-HT fue indetectable. Considerando que sólo las ratas con depleción de 5-HT en el "core" no mostraron preferencia de lugar tras morfina, los resultados indican que la liberación de serotonina en el "core", pero no en el "shell", juega un papel independiente a la dopamina y crítico en los procesos de recompensa opiácea. Los resultados permiten postular que la división "heurística" entre "shell" límbico y "core" motor ha de ser reevaluada.

Trabajo financiado por DGES (PM97-0127) a EFE y MEC (A.L.E.99) a JPM.

O-58

### DETERMINACIÓN DEL SUBTIPO DE ADRENOCEPTOR $\alpha_2$ LOCALIZADO EN EL LOCUS COERULEUS DE RATA QUE MODULA LA LIBERACIÓN DE NORADRENALINA EN CORTEZA CINGULAR. Mateo Y., Meana J.J. Dpto. de Farmacología, Universidad del País Vasco.

Los adrenoceptores  $\alpha_2$  (AR- $\alpha_2$ ) regulan la liberación de noradrenalina (NA) en los terminales noradrenérgicos y modulan la actividad eléctrica del locus coeruleus (LC), principal núcleo noradrenérgico del SNC. El objetivo del presente estudio fue determinar in vivo mediante microdialisis cerebral el subtipo de AR- $\alpha_2$  localizado a nivel somatodendrítico en el LC y que regula la liberación de NA por los terminales noradrenérgicos sitos en la corteza cingular de rata.

El agonista de los AR- $\alpha_2$  clonidina aplicado en el LC redujo de manera concentración-dependiente (0.1-100  $\mu\text{M}$ ) los niveles extracelulares de NA en corteza cingular ( $F[10,42] = 3.82$ ;  $p < 0.05$ ) siendo el efecto inhibitorio máximo del  $47 \pm 9\%$  ( $n=4$ ). Este efecto fue bloqueado en presencia del antagonista de los AR- $\alpha_2$  2-metoxi-idazoxan (RX821002) (1  $\mu\text{M}$ ). La administración local en el LC a una única dosis (1  $\mu\text{M}$ ) de clonidina o bromoxidina (UK14304) redujo los niveles extracelulares de NA en corteza cingular con efectos inhibitorios máximos de  $37 \pm 8\%$  ( $n=7$ ) y  $40 \pm 7\%$  ( $n=5$ ), respectivamente. La aplicación local en el LC (1  $\mu\text{M}$ ) del antagonista no selectivo RX821002, incrementó los niveles extracelulares de NA en corteza cingular hasta  $203 \pm 28\%$  ( $n=4$ ). De manera similar el antagonista selectivo de los AR- $\alpha_2$  del subtipo  $\alpha_{2A}$  BRL44408 a 1  $\mu\text{M}$  indujo un aumento del  $248 \pm 55\%$  ( $n=7$ ). Por el contrario, los niveles de NA en corteza cingular no se modificaron tras la administración en el LC a 1  $\mu\text{M}$  del antagonista selectivo de los AR- $\alpha_2$  del subtipo  $\alpha_{2B/C}$  ARC239 ( $104 \pm 7\%$ ;  $n=4$ ). La administración conjunta en el LC de clonidina o bromoxidina con BRL44408 no modificó los niveles extracelulares de NA en corteza cingular. Sin embargo, la administración de clonidina o bromoxidina con ARC239 indujo un descenso de NA del  $44 \pm 16\%$  ( $n=3$ ) y  $36 \pm 13\%$  ( $n=3$ ), respectivamente. Los datos demuestran que la liberación de NA en los terminales está regulada de manera tónica por AR- $\alpha_2$  sitos a nivel somatodendrítico en el LC. Estos AR- $\alpha_2$  somatodendríticos pertenecen al subtipo  $\alpha_{2A}$ .

Trabajo financiado por: FIS (98/0559) y UPV/EHU (GI 13/98). Y.M. es becario predoctoral del Gobierno Vasco.

P-2.1

### EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL (mRNAs) DE PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE ZINC, ZnT-1 Y ZnT-3, DURANTE EL DESARROLLO POSTNATAL DE RATA Y RATÓN.

Valente T., Pérez-Clausell J., Auladell C.

Dpto. Biología Celular Animal i Vegetal, Facultat Biologia, UB, Barcelona

Las ZnT constituyen una familia de proteínas implicadas en el transporte de  $\text{Zn}^{2+}$ . Estas proteínas se caracterizan por tener un dominio rico en histidinas, responsable del transporte de zinc. En este estudio, hemos determinado la expresión génica diferencial de la ZnT-1 y de la ZnT-3, evaluando la expresión *in situ* de sus mRNAs, durante el desarrollo postnatal (P0-P31). En el adulto, se ha descrito que la ZnT-1 se localiza en la membrana plasmática de una amplia variedad de tipos celulares, siendo responsable del transporte de zinc hacia el medio extracelular. Sin embargo, la ZnT-3 se localiza en la membrana de las vesículas sinápticas de las neuronas, desempeñando un importante papel en el transporte de zinc hacia el interior de la vesícula.

Los resultados obtenidos muestran que: (a) cada una de las ribosondas usadas, la 3'UTRmZnT-1 de rata y la 3'UTRmZnT-3 de ratón, presentan una afinidad y un patrón de marcaje similar en ambas especies; (b) durante el desarrollo, hay un incremento general en la expresión basal de ambos genes; (c) la expresión basal del gen de la ZnT-1, en los primeros estadios postnatales, está concentrada en las cortezas cingular y retrosplenial, en los núcleos amigdalinos y en la capa de células piramidales del hipocampo y de la corteza piriforme, mientras que su expresión se extiende hacia la edad adulta; (d) la expresión basal del gen de la ZnT-3, en la primera semana del desarrollo postnatal, es muy débil en todo el telencéfalo, sin embargo, existen regiones muy concretas, tales como las capas altas del córtex, la corteza retrosplenial y el epitelio proliferativo, donde la expresión es evidente; en edades posteriores, la expresión basal del gen se incrementa, especialmente en las células de la capa piramidal del hipocampo, del neocórtex y de la corteza piriforme; y (e) la expresión génica de la ZnT-1 es más alta que la de la ZnT-3. Los cambios observados en la expresión génica de los transportadores ZnT-1 y ZnT-3, durante el desarrollo postnatal, son coherentes con su distinta localización y función celular. Además, el incremento en la expresión basal de estos genes evoluciona simultáneamente con la formación y el desarrollo de los circuitos neuronales ricos en zinc.

Financiado por: "Marató TV3" (1022/97) y DIGCYT (PM97-0048-C02-02).

P-2.2

### EFFECTO DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN LA INERVACION SEROTONINÉRGICA DE LA NEOCORTEZA. Ausó, E., Camacho, M.A., García-Velasco, J.V., Molina, M.L., Berbel, P. Inst. Neurociencias, Alicante.

En ratas hipotiroideas (H), se ha observado una migración neuronal durante la histogénesis cortical defectuosa que altera la laminación y la citoarquitectura de los barriles en la corteza somatosensorial (S1). También las aferencias talámicas están afectadas en parte debido a la migración neuronal defectuosa en ratas H, aunque otros factores como las aferencias serotoninérgicas también podrían estarlo. Para contestar esta pregunta, hemos usado la técnica inmunohistoquímica de la serotonina (5-HT). El hipotiroidismo se indujo tratando ratas gestantes con metimazole desde el día embrionario 13 y tiroidectomía postnatal de las crías a los 6 días (P6). La inervación 5-HT de S1 proviene de neuronas de los núcleos del rafe y se observa, en la rata normal (C), desde P0 hasta P12. En las áreas sensoriales de la neocorteza, ésta inervación 5-HT transitoria se solapa con las aferencias talámicas y parece ser que juega un papel crucial en el refinamiento de las conexiones. En cortes tangenciales de ratas H, observamos zonas 5-HT positivas en las áreas sensoriales auditiva, visual y S1 similares a las de las ratas C. En ambos grupos, se observan i) en la corteza auditiva, zonas 5-HT positivas formando parches con límites poco definidos; ii) en la corteza visual, una zona 5-HT uniformemente teñida que se solapa con el área 17, la cual presenta unos límites nítidos (posiblemente entre áreas 17 y 18) y iii) en la corteza S1, subáreas bien delimitadas (representando zonas concretas de la periferia como son las vibras y los pelos del hocico, la mandíbula y las patas delantera y trasera) y otras de límites más difusos. No obstante, aunque el mapa 5-HT es muy similar entre ratas C y H, en estas últimas pueden aparecer menos desarrolladas algunas subáreas 5-HT positivas. En cambio, el patrón temporal es muy distinto en las ratas H; en ambos grupos, se empiezan a observar áreas 5-HT positivas a partir de P0 pero en las ratas H, no desaparecen hasta P17-18 (i.e., 5-6 días después que en las C). Los mecanismos que conducen a la pérdida de esta inervación 5-HT en S1 no se conocen pero pueden deberse a la muerte de células 5-HT del rafe y/o a la eliminación/reorganización de los axones 5-HT de la corteza. En las ratas H, el patrón de conexiones cortico-talámico puede estar alterado no sólo por la migración anormal de células diana, sino también por la permanencia de los axones 5-HT retrasando el mecanismo de eliminación/estabilización de las aferencias talámicas.

Trabajo financiado por la CICYT(SAF97-0179).