



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**ESTUDIO DE LA NEUROPLASTICIDAD ESTRUCTURAL DE LA
CORTEZA AUDITIVA PRIMARIA EN UN MODELO ANIMAL
RELACIONADO CON LA ESQUIZOFRENIA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

KARLA GISELA MARTÍNEZ NOLASCO

DIRECTOR DE TESIS

DR. GONZALO FLORES ÁLVAREZ

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. ALFONSO DANIEL DÍAZ FONSECA

ASESOR TÉCNICO

DR. HIRAM TENDILLA BELTRÁN

ÍNDICE

RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 Esquizofrenia.....	5
1.2 Síntomas de la esquizofrenia	5
1.3 Alucinaciones auditivas.....	6
1.4 Neurobiología de las alucinaciones auditivas.....	7
1.4.1 Vía auditiva	7
1.4.2 Neuroplasticidad (microcircuitos relacionados a la sintomatología de la esquizofrenia)	9
1.4.3 Neuroquímica relacionada a la esquizofrenia.....	10
1.4.4 Neuroanatomía asociada a la esquizofrenia.....	11
1.4.5 Neurofisiología	13
1.5 Corteza auditiva primaria en la esquizofrenia	14
1.6 Dendritas y espinas dendríticas	15
1.6.1 Cambios en las dendritas en la esquizofrenia.....	16
1.7 Cambios de las espinas dendríticas en la esquizofrenia	17
1.8 Lesión neonatal del hipocampo ventral	18
2. JUSTIFICACIÓN.....	21
3. HIPÓTESIS.....	22
4. OBJETIVOS	22
4.1 Objetivo general	22
4.2 Objetivos específicos.....	22
5. METODOLOGÍA.....	23
5.1 Diagrama de trabajo.....	24
5.2 Lesión neonatal del hipocampo ventral	25
5.3 Análisis morfológicos.....	25
5.3.1 Verificación de la lesión	26
5.3.2 Técnica de Golgi-Cox.....	26
5.4 Análisis de Sholl.....	26
5.5 Densidad de espinas dendríticas	27
5.6 Análisis estadístico	28
6. RESULTADOS.....	29

6.1 Verificación de la lesión.....	29
6.2 Análisis de Sholl.....	29
6.2.1 Longitud dendrítica por orden.....	29
6.2.2 Longitud dendrítica total.....	30
6.2.3 Arborización.....	31
6.3 Densidad de espinas dendríticas en la Au1.....	32
7. DISCUSIÓN.....	33
8. CONCLUSIÓN.....	38
9. PERSPECTIVAS.....	39
10. REFERENCIAS.....	41

RESUMEN

La esquizofrenia, un tipo de psicosis, es un trastorno psiquiátrico complejo que se ha relacionado con problemas en el neurodesarrollo. Clínicamente, es muy heterogéneo, ya que la sintomatología mostrada comprende tres tipos: positiva, negativa y cognitiva. Dentro de los positivos, se encuentran las alucinaciones, siendo las del tipo auditivo las más comunes, puesto que se presentan en cerca del 80% de los pacientes. Las alucinaciones auditivas son experiencias sensoriales que surgen en ausencia de una fuente responsable y suele ser percibida como voces, generalmente con una connotación negativa. A pesar de ser uno de los principales síntomas, el mecanismo por el cual estas se originan no se encuentra bien establecido, sin embargo, se han asociado a irregularidades en la activación, conectividad e integración entre las redes auditivas, de lenguaje y memoria cerebrales. Una de las regiones que se ha postulado que podría estar implicada es la corteza auditiva primaria, basándose en estudios de imagenología de sujetos esquizofrénicos, además de la presencia de alteraciones neurofisiológicas.

Los reportes existentes en la literatura abordando las perturbaciones en el lóbulo temporal y en la corteza auditiva primaria son escasos. La LNHV es un modelo animal del neurodesarrollo, para esquizofrenia, en el cual se encuentra bien establecida la existencia de cambios neuroplásticos en regiones corticolímbicas, implicadas en este trastorno, por lo que la presencia de cambios neuroplásticos en la corteza auditiva primaria indicaría que este modelo es adecuado para el estudio de esta región. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios en las dendritas y espinas dendríticas en neuronas piramidales de la capa III de la corteza auditiva primaria en ratas con LNHV, a los 60 días post natales. Se encontró una disminución en la densidad de espinas dendríticas, así como un decremento en la longitud dendrítica y la arborización, sugiriendo la existencia de déficits en el procesamiento de información a este nivel.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico complejo, cuya patogénesis puede comenzar durante el neurodesarrollo, ya que se relaciona a problemas durante el último trimestre del embarazo, así como complicaciones obstétricas (McCutcheon et al., 2020; Ursini et al., 2018). Su prevalencia es alrededor del 1% de la población mundial, y está caracterizado por su heterogeneidad clínica y genética. Existen factores que incrementan el riesgo de padecerla, como el historial de la enfermedad en familiares, principalmente si son de primer grado, heredándose hasta en un 80% de los casos (Ohi et al., 2017), factores genéticos como alteraciones en los genes para neuregulina 1, disbindina, catecol O-metiltransferasa (COMT), entre otros, factores ambientales y abuso de sustancias (Ross et al., 2006); además, se asocia a una reducción de alrededor de 15 años de la esperanza de vida, ya que existe un incremento de riesgo de muerte por suicidio de un 5 a 10%.

1.2 Síntomas de la esquizofrenia

Los síntomas de la esquizofrenia comprenden un amplio rango de anormalidades conductuales, las cuales se pueden agrupar como positivos, negativos y cognitivos, sin embargo, ninguno de ellos puede considerarse patognomónico, ya que pueden estar presentes también en otros padecimientos como en el desorden de bipolaridad, incluso, en sujetos clínicamente sanos. Los síntomas positivos se relacionan con comportamientos y pensamientos inusuales, tales como alucinaciones, delirios y psicosis; en los negativos se encuentran la anhedonia, disminución de iniciativa y energía, y exclusión social; mientras que los neurocognitivos están asociados a discapacidades funcionales entre los que se encuentra una disminución en la memoria declarativa y de trabajo, así como funciones del lenguaje y otras funciones ejecutivas, los síntomas positivos se relacionan a disfunciones en el sistema dopaminérgico mesolímbico, mientras que los negativos y cognitivos a baja actividad mesocortical de este neurotransmisor, no obstante, se ha propuesto que el origen de la sintomatología es por hipofunción de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), cuyos

defectos generarían un desbalance entre glutamato/ácido gamma aminobutírico (GABA) y desencadenaría las desregulaciones dopaminérgicas en las vías mesolímbicas y mesocorticales (American Psychiatric Association, 2013; Schwartz et al., 2012).

1.3 Alucinaciones auditivas

Las alucinaciones auditivas, se pueden definir como experiencias sensoriales del sonido en ausencia de una fuente externa correspondiente, son el tipo de alucinación más común en los pacientes con esquizofrenia, ya que se presenta en alrededor del 80% ellos (Doucet et al., 2019).

Estas falsas percepciones, suelen reconocerse como voces, ya sean familiares o no, que son distinguidas como distintas de los pensamientos del individuo y frecuentemente tienen una connotación emocional negativa, pudiendo ser despectiva, persecutoria abusiva, insultante, acusadora, intrusiva, crítica, obscena o amenazante, lo cual genera malestar al paciente, incrementando el riesgo de suicidio y conducta agresiva (American Psychiatric Association, 2013; Larøi et al., 2019; Mørch-Johnsen et al., 2017).

Las alucinaciones auditivas han sido asociadas a anormalidades en la activación, conectividad e integración entre las redes auditivas, de lenguaje y memoria cerebrales, también se ha observado que estas se acompañan de un incremento de la concentración de glutamato en las áreas prefrontales y auditivas cerebrales, teniéndose como una de las hipótesis para ello que la liberación de glutamato se encuentra en desbalance dado a deficiencias en la descarga GABA, así mismo, se ha considerado relevante la participación de las vías dopaminérgicas (tal como las que se originan en mesencéfalo e incremental la actividad de las estructuras límbicas), dada la evidencia de la eficacia de los antipsicóticos que bloquean el receptor dopaminérgico D₂ (D₂R) cerebral ante dichas alucinaciones (Moseley et al., 2013; Steinmann et al., 2019).

1.4 Neurobiología de las alucinaciones auditivas

La presencia de alucinaciones no es exclusiva de la esquizofrenia, por lo que los hallazgos respecto a la neuroanatomía, fisiopatología y neuroquímica subyacentes a este fenómeno, puede variar entre los trastornos en los que se presentan, así como en sujetos clínicamente sanos que llegan a padecerlas.

1.4.1 Vía auditiva

Los estímulos auditivos se presentan como ondas, estas, alcanzan el oído externo y viajan hacia el meato acústico externo, llegando después al tímpano, desencadenando el movimiento de los huesos maleo, yunque y estribo, causando una amplificación de la energía generada por la onda, y transfiriendo así la vibración hacia la ventana oval del oído interno y hacia la cóclea, donde la energía se transforma en eléctrica gracias a los receptores auditivos: las células ciliadas en el oído interno, denominada de esta forma debido a la presencia de estructuras de forma ciliar, conocidos como estereocilios, los cuales generan la transducción de la señal cuando sufren alguna deformación en su porción apical, en función de la dirección en la que se lleva a cabo dicha deformación. Si estas células son activadas por la deformación, se desencadena la apertura de canales de K^+ activados mecánicamente, lo que genera despolarización en la célula y la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje, lo que a su vez permite la liberación de vesículas con neurotransmisores excitatorios que permiten la activación de las fibras nerviosas dentro del núcleo coclear. Cada fibra nerviosa se ramifica, mandando una ramificación ascendente al núcleo coclear anteroventral y una ramificación descendente al núcleo coclear posteroventral y al núcleo coclear dorsal. En las vías auditivas ascendentes la información se transmite por medio de fibras cruzadas hacia complejo olivar superior desde el núcleo coclear, posteriormente, los axones de las neuronas olivares ascienden por el lemnisco lateral e inervan al colículo inferior del mesencéfalo, seguido, las neuronas del colículo inferior proyectan hacia el núcleo geniculado medial del tálamo, quien proyecta a su vez hacia la corteza auditiva. Los circuitos descendentes proyectan desde la corteza auditiva hacia el colículo inferior, posteriormente al complejo olivar superior y al núcleo coclear. Este circuito ayuda a modular las respuestas auditivas con

base en su relevancia, atención, conductas aprendidas y estados emocionales de los sujetos (Bear et al., 2016; Peterson et al., 2021; Purves et al., 2001).

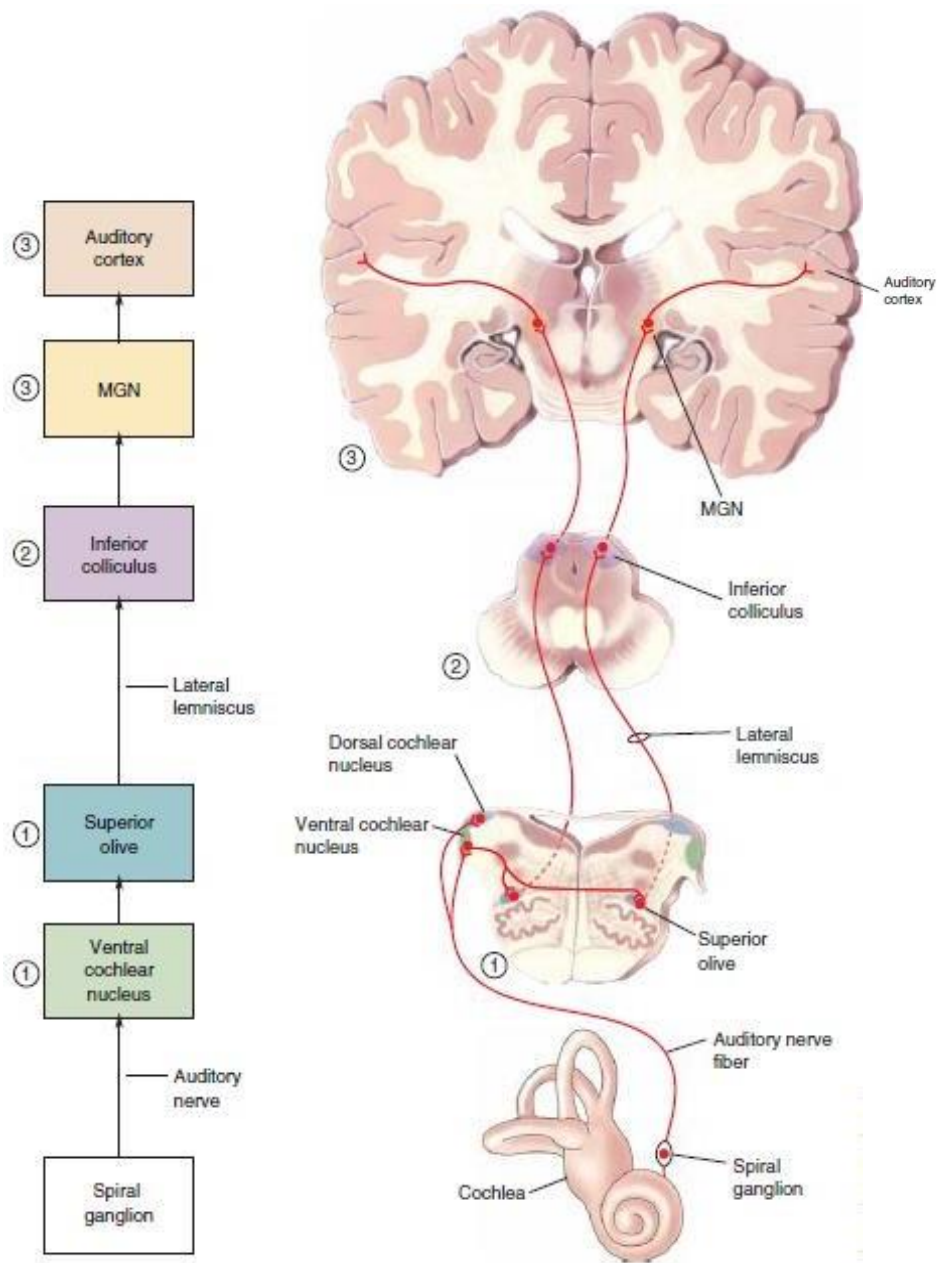


Fig 1. Vía auditiva. Sólo se muestra la conexión generada desde uno de los dos oídos (imagen tomada de Neuroscience: exploring the brain, Bear, et al., 2016).

1.4.2 Neuroplasticidad (microcircuitos relacionados a la sintomatología de la esquizofrenia)

Los microcircuitos interlaminares en la esquizofrenia han sido estudiados principalmente en la corteza prefrontal (CPF), región involucrada con el comportamiento, cognición y percepción y considerada como una de las estructuras primordialmente afectadas en este padecimiento, puesto que se ha observado una menor densidad neuronal así como un agrandamiento de los espacios entre la microcolumna, que desemboca en un procesamiento interlaminar disfuncional que puede observarse como déficits a nivel emocional, cognitivo y motor, así como alteraciones morfológicas (Flores et al., 2016; Opris et al., 2017; Opris & Casanova, 2014) Se han observado reducciones en la densidad de espinas dendríticas en las capas III y V de la CPF en modelos animales (Tendilla-Beltrán, Antonio Vázquez-Roque, et al., 2019).

La neocorteza está organizada en seis capas, las primeras tres son denominadas como supragranulares (capas I, II y III), una granular (capa IV) y dos infragranulares (capas IV, V). Las capas infragranulares están compuestas por neuronas piramidales pequeñas que generan la mayoría de las salidas de información desde la corteza cerebral a otras regiones, las conexiones cortico-corticales surgen de las capas II y III, las proyecciones subcorticales tienen su origen en las capas V y VI. Si bien, las bases del procesamiento de la información entre las capas de la corteza auditiva ha sido difícil de demostrar, se considera que su organización laminar es muy similar a la presentada en otras cortezas sensoriales (Moerel et al., 2019; Opris, 2013).

La secuencia del procesamiento de la información y su flujo está determinada de forma precisa por las conexiones entre las capas corticales, ya sea en dirección tanto horizontal como vertical. Las neuronas de la capa IV responden una latencia más corta, seguida de las capas II, III y V. La entrada de información del tálamo a la corteza llega a la capa IV, siendo esta el principal talamorreceptor, posteriormente, la información recibida se envía hacia las capas II, que también recibe información de la capa I, y III, las cuales a su vez proyectan hacia las capas V y VI, las cuales van a fungir como salidas de la información, (Atencio & Schreiner, 2010; Frandolig et al., 2019; Moerel et al., 2019).

alucinógenos a través de estimulación dopaminérgica y de receptores GABA_{A/B}, por otro lado, la desregulación de glutamato ha sido observada por medio de la administración de ketamina, un antagonista selectivo de los receptores NMDA agrava los síntomas psicóticos en pacientes esquizofrénicos, induce síntomas tipo esquizofrénicos en sujetos sanos, también se ha encontrado que las alucinaciones inducidas por ketamina pueden estar asociadas a un incremento en el disparo de las neuronas (Jardri et al., 2016; Tang & Tang, 2020; Weber et al., 2021).

Desde los años 70's se ha sugerido una posible disminución de los síntomas psicóticos en pacientes esquizofrénicos cuando se antagonizan receptores opioides, por lo que se ha sugerido que los receptores opioides pueden estar involucrados en el desarrollo de la sintomatología (Samuel D. Clark et al., 2020). Se han reportado niveles elevados de receptor opioide *mu* (μ , MOR), el cual está acoplado a proteínas G y una de sus funciones es generar refuerzo de los estímulos naturales, en interneuronas positivas a parvalbumina en pacientes esquizofrénicos, también se ha reportado que el agonismo de los receptores opioides *kappa* (κ , KOR), también acoplados a proteínas G, cuyo agonismo genera efectos psicomiméticos, puede estar involucrado con la aparición síntomas positivos, tal como las alucinaciones (Samuel David Clark & Abi-Dargham, 2019; Shekhar, 2019; Tendilla-Beltrán et al., 2021; Ugur et al., 2018).

1.4.4 Neuroanatomía asociada a la esquizofrenia

Existen diferentes teorías respecto al origen de las alucinaciones auditivas, entre las cuales se contemplan disfunciones en el procesamiento bottom up o top down, disfunción en las regiones de procesamiento sensitivo de modalidad específica; activación aberrante dentro de las áreas del lenguaje frontal-temporal y una disfunción de los sistemas de memoria verbal. (Allen et al., 2012; Zmigrod et al., 2016), así como la presencia de reducciones en el volumen de regiones auditivas y de la percepción del habla, lo cual se ha correlacionado con fallos en la inhibición y atribución correcta del discurso interno (Modinos et al., 2013).

Basándose en estudios de neuroimagen realizados a pacientes con esquizofrenia, se han observado anomalías en diversas regiones cerebrales, lo que permite asociar a las alucinaciones auditivas con reducciones en la conectividad cerebral teniéndose una relación entre la severidad de las alucinaciones y una reducción de la materia gris en el giro post-central izquierdo y el cíngulo posterior, áreas consideradas relevantes para facilitar la integración de estímulos autorreferenciales (Allen et al., 2012). Principalmente, se ha asociado la ocurrencia de las alucinaciones auditivas con la activación de regiones involucradas en la percepción y generación del habla, así como de la memoria verbal (Hoffman et al., 2009). Se ha reportado la activación de áreas sensoriomotoras como la corteza auditiva primaria y el área de Broca (Zmigrod et al., 2016).

De forma complementaria, se ha observado a activación espontánea, mediante resonancia magnética funcional, en la red auditiva (giro temporal superior izquierdo, lóbulo temporal izquierdo y área de Heschl). Además, se ha observado un incremento en la actividad estriatal, así como en el núcleo talámico subcortical, regiones paralímbicas (cíngulo e ínsula), activación del giro hipocampal, cerebelo, giro precentral, opérculo frontal y el surco paracingulado de la corteza prefrontal media durante las alucinaciones auditivas y el hipotálamo, así como anomalías en las vías entre el tálamo y la amígdala (Allen et al., 2012; Thakur & Gupta, 2021; Zmigrod et al., 2016).

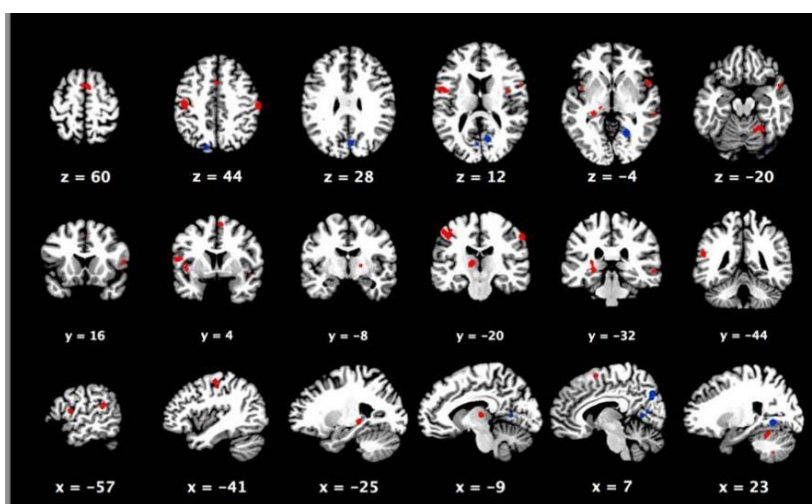


Fig. 3. Meta-análisis de neuroimagen mediante estimación de la probabilidad de activación por alucinaciones auditivas (Z: cortes axiales, Y: cortes coronales y X: cortes sagitales). Se observa, marcado en color rojo una activación significativa en las áreas de Broca, Wenicke, ínsula, lóbulo temporal medial y región paracingulada (Imagen tomada de Zmigrod et al., 2016).

1.4.5 Neurofisiología

La explicación cognitiva sobre las alucinaciones auditivas sugiere que existe una reducción en el control de los estímulos sensitivos, que surge por problemas en los mecanismos de inhibición, y fallos en atenuar las consecuencias sensitivas del habla interna. Las descargas corolarias llevan a cabo mecanismos de integración, mediante los cuales se envían señales a áreas frontales involucradas con la generación del discurso interno, permitiendo la supresión de respuestas sensoriales desencadenadas por auto estímulos, está mediado por interneuronas de descarga corolaria, las cuales son capaces de generar inhibición en la terminal presináptica ante estímulos auditivos generados de forma interna por los individuos, evitando así, saturación en los sistemas sensoriales. Fallos en este mecanismo se relaciona con la aparición de alucinaciones auditivas (Boksa, 2009; Parlikar et al., 2019; van Lutterveld et al., 2011).

El componente N100, un potencial negativo, generado en la corteza auditiva, se presenta como un pico que aparece entre 80-120 ms después del inicio de un estímulo, primordialmente auditivo, y su amplitud está condicionada por el intervalo entre estímulos, intensidad, nivel de excitación. Se han reportado reducciones en este componente en pacientes esquizofrénicos, así como retrasos durante la experiencia de alucinaciones auditivas, teniéndose mayores diferencias entre los periodos con y sin alucinaciones en la corteza temporal superior izquierda, sugiriendo activaciones anormales, así como una competencia entre los estímulos auditivos y las alucinaciones por los recursos fisiológicos en la corteza auditiva primaria (Onitsuka et al., 2013; van Lutterveld et al., 2011).

La compuerta sensorial, es decir, la capacidad del cerebro de suprimir el procesamiento estímulos sensoriales entrantes que son irrelevantes, se encuentra afectada en los pacientes esquizofrénicos (Fröhlich, 2016). Se ha encontrado una mayor actividad en la banda *gamma*

en la corteza auditiva primaria que podría tener responsabilidad de las alucinaciones auditivas, incremento en el poder de la banda alfa en la corteza temporal superior durante las alucinaciones auditivas, así como incremento en la actividad de la banda *theta*, en el lóbulo frontal izquierdo, en pacientes esquizofrénicos. También, se han sugerido fallos en la red fronto-temporal durante el discurso abierto, también puede ocurrir en el discurso cerrado, lo que puede ser atribuido de forma errónea pensamientos internos como provenientes de fuentes externas (Jardri et al., 2016; van Lutterveld et al., 2011).

1.5 Corteza auditiva primaria en la esquizofrenia

La corteza auditiva es el objetivo de toda la información auditiva aferente. Se localiza en el área de Heschl, ubicada en el giro temporal superior (área 41 de Brodmann) del lóbulo temporal y recibe entradas desde la división ventral del cuerpo geniculado medial del tálamo (Mørch-Johnsen et al., 2017; Purves et al., 2001). Esta región es crítica para el procesamiento auditivo, siendo su función fundamental el procesamiento de frecuencias (Doucet et al., 2019; McKinney et al., 2019).

La organización tonotópica de la corteza auditiva primaria es establecida durante la vida prenatal y post natal temprana, lo que coincide con un punto crítico en el neurodesarrollo de los pacientes que posteriormente desarrollan esquizofrenia. Los individuos con este trastorno generalmente no muestran insuficiencias en los mecanismos periféricos encargados el procesamiento sonoro, sino que exhiben deficiencias de mayor orden (*bottom up*) (Doucet et al., 2019; Voss et al., 2019), como lo es dentro de la corteza auditiva primaria, donde se ha reportado alteraciones estructurales, funcionales y electrofisiológicas, teniéndose afectaciones en la interpretación de información sensitiva, lo que se ha correlacionado con disfunciones selectivas en la habilidad de discriminar las emociones transmitidas de forma oral, así como en la presencia de alucinaciones auditivas (Dorph-Petersen et al., 2009; Mørch-Johnsen et al., 2017).

El principal hallazgo que se ha tenido en esta región ha sido sobre el giro de Heschl izquierdo, donde se ha observado pérdida de volumen de la materia gris en los pacientes que presentan alucinaciones auditivas respecto con los que no, dicha disminución que guarda una relación inversa con la severidad de las alucinaciones auditivas y los desórdenes del pensamiento, asimismo, se ha encontrado reducciones en el volumen promedio del soma de neuronas piramidales, reducción en la densidad de dendritas y axones terminales en la capa , alteración del proteoma sináptico, organización tonotópica alterada durante tareas perceptuales y activación aberrante mientras se experimentan alucinaciones (Doucet et al., 2019; MacDonald et al., 2020; Mørch-Johnsen et al., 2017; Sweet et al., 2004). Estos hallazgos relacionan la vulnerabilidad hacia las alucinaciones con una desviación en la disposición funcional de la corteza auditiva en el desarrollo temprano.

1.6 Dendritas y espinas dendríticas

Las neuronas poseen regiones morfológicas definidas, las cuales son: cuerpo celular, el axón, terminales presinápticas y las dendritas. A partir del cuerpo celular o soma se extiende el axón, de gran longitud y muchas dendritas de menor tamaño, las cuales generalmente no sobrepasan los 2 mm de longitud. El término dendrita viene derivado del término griego para árbol, son compartimentos postsinápticos no mielinizados, funcionalmente reciben señales químicas provenientes de los axones terminales de otras neuronas, por lo que suelen poseer receptores hacia los neurotransmisores y, de esta forma, son capaces de convertir estas señales en impulsos eléctricos y transmitirlos hacia su soma, o para desencadenar otras respuestas celulares. A diferencia de los axones, estas contienen organelos somáticos como ribosomas, retículo endoplásmico, aparato de Golgi. Particularmente en el sistema nervioso central las neuronas poseen dendritas de gran longitud y con muchas ramificaciones (árbol dendrítico), lo que les permite desarrollar una mayor cantidad de sinapsis. El patrón de arborización de las dendritas permite clasificar a las neuronas de acuerdo con su estructura y dicha arborización está determinada tanto por factores intrínsecos, puesto que se considera que la neurona contiene dentro de sí programas transcripcionales que codifican la forma que el árbol dendrítico expresará; así como extrínsecos, debido que las dendritas de neuronas

vecinas también van a estar influenciando la arborización (Bear et al., 2016; Goillard et al., 2019; Kandel et al., 2013; Lodish et al., 2000).

Las espinas dendríticas, descritas por primera vez en 1888 por Ramón y Cajal, son pequeñas protuberancias que surgen de la superficie de dendritas de muchas neuronas en las que se forman sinapsis principalmente excitatorias. Tienen un papel fundamental en la plasticidad sináptica, cuya aparición y pérdida reflejan la formación y eliminación de sinapsis, por lo que se relacionan con los procesos de memoria y aprendizaje, así como el desarrollo sináptico, mantenimiento y plasticidad en condiciones fisiológicas y patológicas, ya que se consideran como sitios de formación y almacenamiento de memoria a través de mecanismos de potenciación y depresión de la actividad sináptica (Chidambaram et al., 2019; Kandel et al., 2013; Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020).

Las espinas son estructuras dinámicas, su morfología está dada fundamentalmente por su citoesqueleto de actina, sin embargo, su forma y densidad puede ser modificada por diversos factores, como concentraciones hormonales, uso de drogas, aprendizaje y actividad sináptica (Glausier & Lewis, 2013; Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020). Las espinas pueden clasificarse como tipo hongo a aquellas que poseen un cuello delgado y una cabeza grande, estas son capaces de formar conexiones sinápticas fuertes, poseen mayor tiempo de vida y son supuestas como el lugar de almacenamiento de memoria a largo plazo; las espinas delgadas, con un cuello delgado y una cabeza pequeña, son pensadas como espinas de aprendizaje, mientras que las espinas gruesas se cree que su formación es a partir de la desaparición de las espinas tipo hongo, convirtiéndose en estructuras poco funcionales; además, se pueden presentar otras con bifurcación, incluso, con múltiples cabezas (Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020; Tendilla-Beltrán, Antonio Vázquez-Roque, et al., 2019).

1.6.1 Cambios en las dendritas en la esquizofrenia

Modificaciones en la morfología de las neuronas puede alterar la arborización de las dendríticas y cambiar la densidad y/o longitud de las dendritas, por lo que el análisis de estos

cambios es esencial para entender los mecanismos que subyacen el trastorno y se observan como cambios conductuales en los modelos animales (O'Neill et al., 2015).

Se han reportado reducciones en la complejidad de los árboles dendríticos basales en neuronas piramidales de la capa III en el área 11 de Brodmann en sujetos esquizofrénicos, mientras que los apicales no mostraron alteraciones, teniéndose una disminución del 29.7% en la longitud dendrítica basilar total y una reducción del 28.3% en la longitud por dendrita, también se han reportado reducciones en la longitud total de las dendritas en la capa II profunda del área 46 de Brodmann (corteza prefrontal dorsolateral) (Glantz & Lewis, 2000; Kalus et al., 2000; Konopaske et al., 2014).

1.7 Cambios de las espinas dendríticas en la esquizofrenia

El balance entre la aparición de las espinas, su maduración, eliminación, y plasticidad es crítico para un funcionamiento cerebral apropiado (Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020). El punto donde surge la disminución de la densidad de espinas dendríticas no es claro, sin embargo, se ha hipotetizado que número de espinas dendríticas puede sufrir cambios significativos durante el desarrollo, se cree que las anomalías en este periodo pueden contribuir a la patología de la esquizofrenia, ya que esto llega a generar alteración en la conectividad de diversas regiones cerebrales (Glausier & Lewis, 2013).

La reducción de la densidad de las espinas dendríticas es una de las alteraciones neuropatológicas halladas con más frecuencia en tejidos cerebrales post mortem en sujetos esquizofrénicos, así como en diversos modelos animales para esta enfermedad, donde esta disminución se ha ligado a disfuncionalidad en la memoria de trabajo, atención, procesamiento sensoriomotor y sociabilidad (Flores et al., 2016; Glausier & Lewis, 2013). Se ha reportado una menor densidad de espinas dendríticas en diversas áreas de la neocorteza, particularmente, en las neuronas piramidales de la capa III en regiones corticales en sujetos con esquizofrenia, en algunas áreas, la densidad se ha encontrado disminuida hasta un 60% (McKinney et al., 2019; Moyer et al., 2015). En la corteza auditiva primaria, por medio de

inmunohistoquímica, se ha reportado una disminución en la densidad de espinas dendríticas cercana al 27% (Sweet et al., 2009). Por otro lado, se han reportado también alteraciones en los niveles de las proteínas necesarias para la estabilización del citoesqueleto en espinas dendríticas en la corteza, incluyendo a la proteína asociada a microtúbulos 2 (MAP2) en la corteza auditiva primaria, lo que conlleva a la malformación de las espinas, lo que a su vez, genera sinapsis defectuosas (Glausier & Lewis, 2013; McKinney et al., 2019).

1.8 Lesión neonatal del hipocampo ventral

Los modelos animales desarrollados para trastornos psiquiátricos permiten el estudio de las bases neurobiológicas de los mismos, la identificación de posibles blancos terapéuticos, así como el análisis de los cambios estructurales y moleculares que ocurren en la enfermedad. Para la investigación en esquizofrenia existen diversos modelos animales, los cuales pueden agruparse como farmacológicos, genéticos y del desarrollo (Winship et al., 2019).

La lesión neonatal del hipocampo ventral (LNHV), expuesto por Lipska y *cols.* (1993), es un modelo del desarrollo basado en la evidencia que relaciona a la esquizofrenia con eventos perinatales, como complicaciones obstétricas o infecciones durante el segundo al tercer trimestre de embarazo, así como los estudios de imagen que muestran cambios en el hipocampo y un agrandamiento de los ventrículos laterales en pacientes esquizofrénicos (Tseng et al., 2009; Winship et al., 2019).

La realización de la lesión se lleva a cabo al día postnatal (DP) 7, equivalente al tercer trimestre de embarazo en humanos por medio de la inyección local de ácido iboténico, lo cual desencadena anomalías consistentes con la esquizofrenia, las cuales suelen aparecer posterior a la pubertad, coincidiendo con la etapa común de inicio de la enfermedad (adolescencia tardía a adultez temprana) (Tseng et al., 2009).

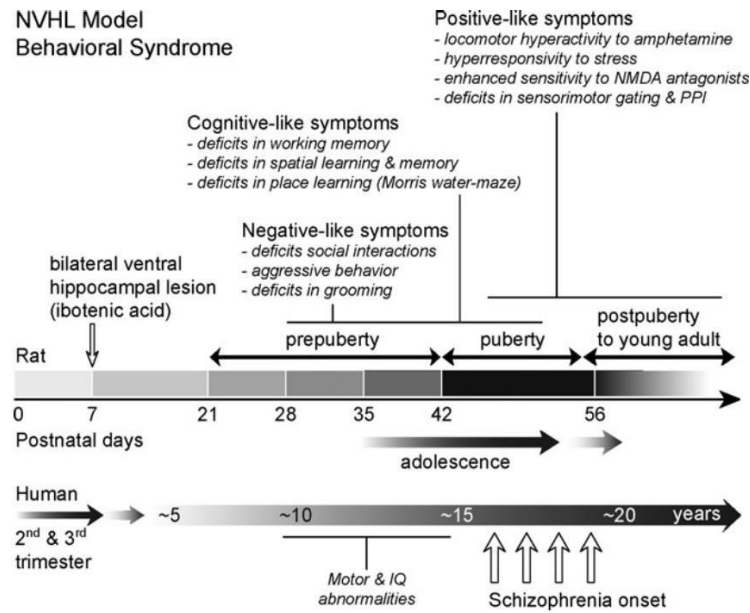


Fig 5 Línea del tiempo sobre la aparición de los cambios conductuales en ratas posterior a la lesión neonatal del hipocampo ventral, en comparación con la manifestación de los síntomas en humanos (imagen tomada de Tseng, et al, 2009).

Este modelo es capaz de reproducir la mayoría de las características conductuales, del desarrollo, neurobiológicas y farmacológicas de la esquizofrenia, incluyendo hiperreactividad hacia estímulos novedosos o estresantes, estimulación del receptor dopaminérgico y disfunción de la sincronización sensorimotora, donde se evalúa la actividad locomotora o la respuesta a la inhibición del prepulso, dichos cambios se relacionan con la sintomatología positiva; retracción social y flexibilidad conductual, relacionada a los síntomas negativos y cognitivos, presentándose en los animales como cambios en los tiempos que permanecen próximos o manteniendo contacto directo con animales que no son familiares para ellos; disfunción de la memoria y perturbación de la memoria de trabajo, lo cual se logra ver mediante pruebas que evalúen la memoria de trabajo, declarativa, así como de reconocimiento visual, espacial y/o olfatorio, lo que se enlaza a síntomas cognitivos, así como alteraciones en diversas áreas cerebrales y circuitos neuronales que están implicados en la esquizofrenia, como una sobre activación de dopamina y glutamato en el sistema límbico, mayores niveles de óxido nítrico (NO) y de la sintasa de óxido nítrico, alteraciones en la densidad de espinas o en los árboles dendríticos, los cuales se relacionan con pérdidas o aumentos en la conectividad (Brady, 2016; Chambers & Sentir, 2020; Flores, 2016; Tseng

et al., 2009), así mismo, en este modelo también se ha reportado una reducción del componente N40 en la corteza temporal, empleado para evaluar la compuerta sensorial, en ratas con LNHV, correlacionándolo con una reducción en la densidad celular la corteza temporal (Romero-Pimentel et al., 2014).

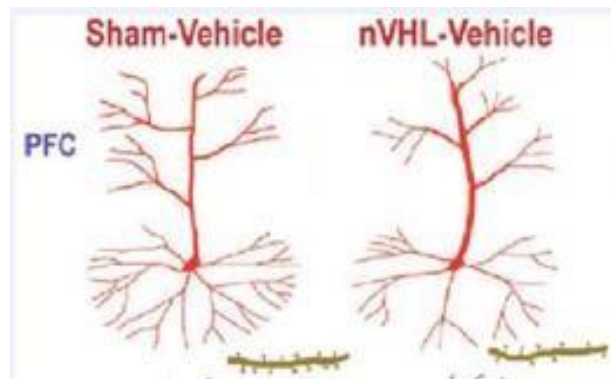


Fig. 4. Comparación del árbol dendrítico en neuronas piramidales de la CPF en ratas así como de las dendritas. Se observa una mayor arborización así como una menor densidad de espinas dendríticas en los animales con LNHV respecto a los animales con lesión falsa (sham) (Imagen modificada de Flores & Morales-medina, 2016)

2. JUSTIFICACIÓN

Los mecanismos neurobiológicos subyacentes de las alucinaciones auditivas, uno de los principales síntomas de la esquizofrenia, aún no se encuentran completamente dilucidados, al igual que gran parte de los mecanismos fisiopatológicos de este padecimiento.

Existe poca información sobre las alteraciones de neuroplasticidad del lóbulo temporal en la esquizofrenia, a pesar de se ha demostrado claramente la disfunción de esta región en la enfermedad. Algunos reportes previos han demostrado una disminución en la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa III de la corteza auditiva primaria en sujetos esquizofrénicos. Esto sugiere que la afección del neurodesarrollo del lóbulo temporal en la esquizofrenia.

La LNHV, es un modelo de neurodesarrollo relevante para el estudio de la esquizofrenia en el cual se han demostrado cambios en la neuroplasticidad de distintas regiones corticales y límbicas, por lo que sería relevante analizar si estos cambios también se presentan en la corteza auditiva primaria.

El análisis de esta región por medio de la tinción de Golgi-Cox podría proveer información sobre los cambios en las dendritas y poder ser asociados a los hallazgos previos sobre alteraciones la corteza auditiva primaria. Por otro lado, de encontrarse cambios en esta región, permitiría abrir una ventana de estudio sobre los mecanismos moleculares subyacentes a dichos cambios, así como la evaluación del efecto de la farmacoterapia, empleando el modelo de LNHV.

3. HIPÓTESIS

La lesión neonatal del hipocampo ventral en ratas genera cambios en las dendritas, ya sea en su longitud por orden dendrítico, arborización y longitud dendrítica total, así como en la densidad de espinas dendríticas por la disminución del número de espinas a lo largo de las dendritas de la corteza auditiva primaria.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Evaluar los cambios en las dendritas y en las espinas dendríticas de la corteza auditiva primaria en ratas con lesión neonatal del hipocampo ventral

4.2 Objetivos específicos

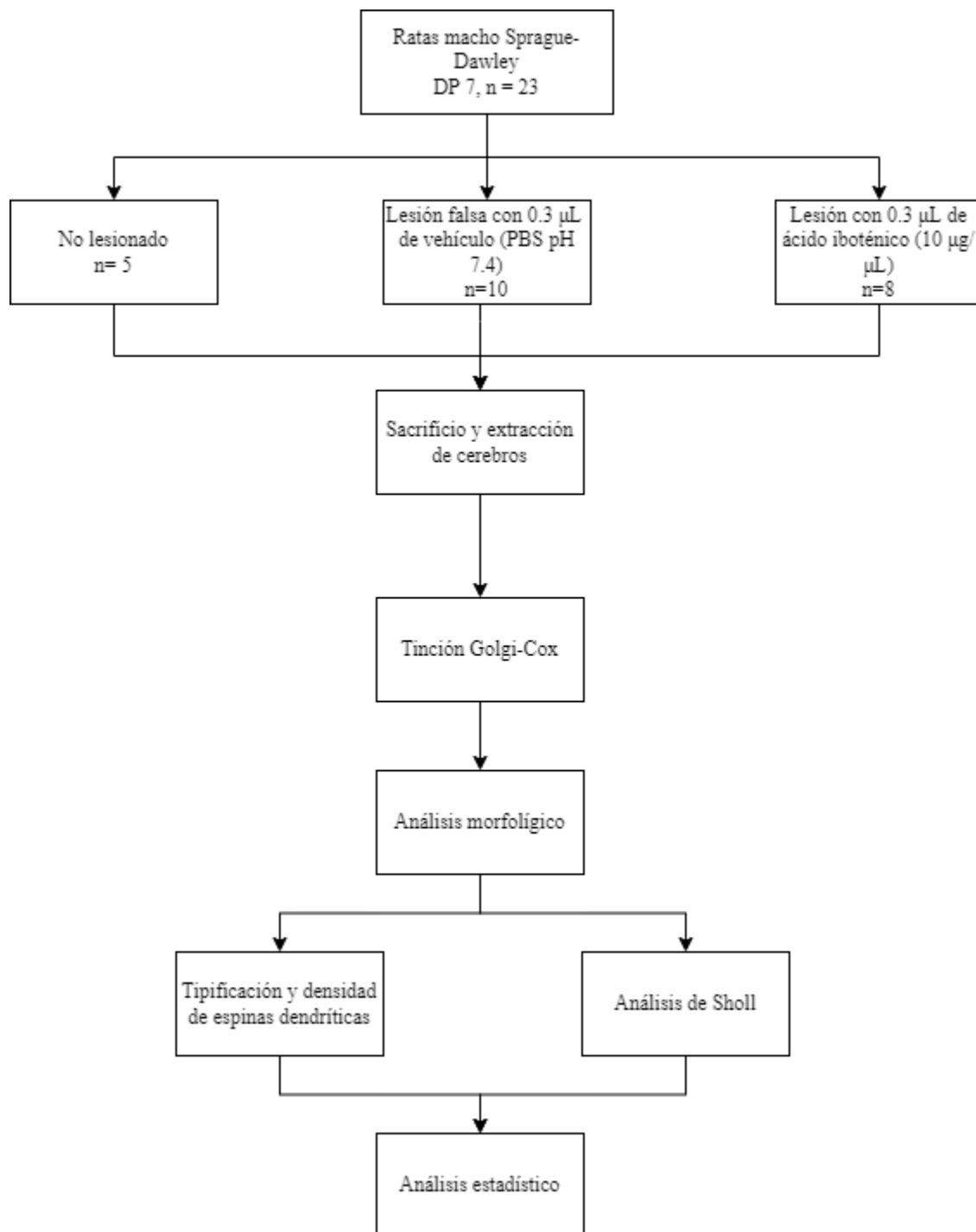
- Evaluar los cambios en la longitud por orden dendrítico, arborización y longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la capa III en la corteza auditiva primaria en ratas con lesión neonatal del hipocampo ventral contra un grupo con lesión falsa.
- Comparar los cambios sobre el número de espinas dendríticas en neuronas piramidales de la capa III de la corteza auditiva primaria en ratas con lesión neonatal del hipocampo ventral contra un grupo de lesión falsa.

5. METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, obtenidos del bioterio Claude Bernard (BUAP), en condiciones de humedad y temperatura controladas, ciclo luz-oscuridad 12-12, con acceso libre a comida y agua.

Los experimentos fueron aprobados por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de la BUAP (FLAG-VIEP-17-1) y se llevaron a cabo de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio; las pautas establecidas en la Guía para el Cuidado y Uso de animales de laboratorios de los Institutos Nacionales de Salud (EE.UU.); y la Directiva 86/609/CEE del Consejo de 24 de noviembre de 1986 del consejo de las comunidades europeas.

5.1 Diagrama de trabajo



5.2 Lesión neonatal del hipocampo ventral

La lesión se realizó al DP 7, en ratas macho (N=23) con un peso entre 15-18 g. Siendo asignados de forma aleatoria al grupo intacto (N=5), sham (N=10) (lesión falsa) y grupo lesionado (N=8). La anestesia se llevó a cabo mediante hipotermia, tras la colocación de los animales en una cámara fría por alrededor de 10 min. Se comprobó que la anestesia está completa cuando el animal no presente reflejos.

Posteriormente, las ratas fueron fijadas en un aparato estereotáxico, se realizó una incisión longitudinal para exponer el cráneo, seguido, y se ubicaron las coordenadas anteroposterior -3.0 mm, medio-lateral \pm 3.5 respecto a bregma y ventro-dorsal -4.9 respecto a la duramadre, donde se realizó una trepanación y mediante una cánula de calibre 26 conectada a una bomba de infusión se administró de forma bilateral 0.3 μ L de ácido iboténico (10 μ g/ μ L) en 0.15 M de buffer de fosfatos ajustado a pH 7.4, a una velocidad de flujo de 0.15 μ L/min. Para el grupo de lesión falsa se realizaron los mismos pasos, administrando en esta ocasión solamente el vehículo utilizado para el grupo lesionado. Terminada la administración, se dejó la cánula por 1 min para permitir una mejor difusión tanto del neurotóxico como del vehículo, después de este tiempo, se retiró. Una vez finalizada la lesión, se suturó la incisión y se hizo un marcaje del grupo con la lesión, colocando tinta china de forma intradérmica en las patas traseras. Ambos grupos se mantuvieron en una cama térmica hasta su recuperación, momento en el que fueron devueltos con sus madres, siguiendo lo reportado por Romero-Pimentel et al., (2014) y Tendilla-Beltrán et al.(2019).

5.3 Análisis morfológicos

Al DP 60 (edad adulto joven), se realizó una anestesia profunda a los animales con pentobarbital sódico (75 mg/kg) vía intraperitoneal, y se perfundieron a través del ventrículo izquierdo del corazón con solución salina isotónica, con la finalidad de eliminar los eritrocitos de los vasos sanguíneos del cerebro y se realizó la extracción de cerebros.

5.3.1 Verificación de la lesión

Se obtuvieron secciones coronales de 50 μm de grosor de todos los animales para verificar la lesión, dichas secciones fueron montadas en laminillas gelatinizadas y teñidas con violeta de cresilo al 0.5% para su análisis. Los cerebros fueron examinados bajo microscopia óptica para la localización de la lesión con ácido iboténico.

5.3.2 Técnica de Golgi-Cox

Se aplicó una variante de la tinción de Golgi desarrollada en 1998 por Gibb y Kolb. Esta consistió en colocar, en recipientes oscuros, los tejidos en una solución de Golgi-Cox (KCr_2O_7 170 mM; HgCl_2 200 mM, K_2CrO_4 200mM) por un periodo de 30 días. Posterior a este tiempo, se mantuvieron en una solución de sacarosa al 30% por 5 días. Después de los 5 días, se obtuvieron cortes coronales de los cerebros, de un grosor de 200 μm , mediante el uso de un vibratomo. Los cortes fueron colocados en laminillas gelatinizadas.

El revelado se llevó a cabo en un cuarto oscuro, donde se sumergieron las laminillas en hidróxido de amonio por un tiempo de 30 min, seguido de un lavado con agua destilada. Se sumergieron las laminillas en un fijador rápido de Kodak, para detener la reacción generada por el hidróxido de amonio. Se prosiguió con la deshidratación de los tejidos, utilizando concentraciones crecientes de etanol (50%, 75%, 90%, 100%), después se aclaró y deshidrató el tejido con xileno por 15 min. Terminado esto, se hizo el montaje de las laminillas con resina sintética.

5.4 Análisis de Sholl

El análisis de Sholl permite apreciar cambios en el árbol dendrítico, ya que permite cuantificar el número de intersecciones que genera una dendrita a distancias definidas del soma mediante círculos concéntricos de radios crecientes, permite evaluar la longitud por

orden dendrítico, la complejidad dendrítica respecto al soma y la longitud dendrítica total (O'Neill et al., 2015; von Bohlen und Halbach, 2013).

Para el análisis se realizó el trazado de 10 neuronas por cada animal (5 por hemisferio), las cuales debían cumplir con características tales como que estén bien impregnadas con la tinción Golgi-Cox, se encuentren completas, aisladas y que permitan visualizar de forma completa el árbol dendrítico basal. El trazado se realizó empleando un microscopio Leica DSM100 acoplado a una cámara lúcida, utilizando una magnificación de 40%. Posteriormente se llevó a cabo la diferenciación de las dendritas de acuerdo con su orden, designándose como dendritas de primer orden a aquellas cuyo origen es el soma, las de segundo orden son las que bifurcan a partir de las de primer orden, las de tercer orden las que bifurcan a partir de las de segundo orden, las subsecuentes se denominan siguiendo este patrón. Una vez clasificadas, se colocó una plantilla transparente, la cual contiene dibujados círculos concéntricos con una distancia de 5 mm entre cada uno (equivalente a 10 μm), el círculo central se colocó sobre el soma y se contó el número de intersecciones de cada orden dendrítico genera con cada círculo, lo que permitió obtener la longitud por orden dendrítico, así como la longitud dendrítica total.

5.5 Densidad de espinas dendríticas

La densidad de espinas dendríticas se realizó localizando la dendrita más distal al soma y de mayor orden, en neuronas piramidales (completamente teñidas y lo más intactas posibles) de la capa III de la corteza auditiva primaria. La localización de la región de interés previamente mencionada se realizó con ayuda del atlas Paxinos y Watson (1998). Utilizando un microscopio óptico Leica, del mismo modelo mencionado previamente con una cámara lúcida adaptada, empleando el objetivo de inmersión, se realizó el dibujo de segmentos de aproximadamente 5.4 cm y que fueron divididos en 3 porciones, cada una siendo equivalentes a 10 μm . Posteriormente se contaron las espinas en cada segmento y se obtuvo el promedio de las 3 porciones para obtener el número de espinas/10 μm (Penagos-Corzo et al., 2015).

5.6 Análisis estadístico

En las gráficas se muestran los resultados como la media \pm el error estándar de la media (EEM). Los datos de longitud por orden dendrítico y arborización se analizaron mediante un ANOVA de 2 vías tomando como variables independientes la lesión y el orden dendrítico o la distancia al soma respectivamente, y si existe interacción entre las variables se realizó una prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. El resto de los datos se analizaron mediante un ANOVA de 1 vía con una prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Para ello se empleó el software GraphPad Prism 8.0. Se tomó $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

6. RESULTADOS

6.1 Verificación de la lesión

Por medio de microscopía óptica se realizó la verificación de la lesión con la finalidad de determinar que ésta fuera llevada a cabo correctamente. En los animales con LNHV se observó una pérdida en la estructura del hipocampo ventral, lo que se refleja en el ensanchamiento de los ventrículos. Dicho cambio no fue observado en los animales sham.

Esto permite confirmar que tanto la lesión falsa como la lesión con ácido iboténico se realizaron adecuadamente.

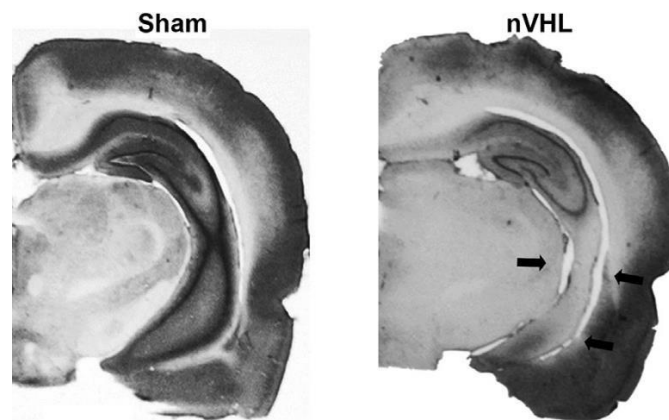


Fig 6. Verificación de la lesión. Se observa un aumento en el tamaño de los ventrículos laterales (flechas) en los animales sometidos a LNHV, mientras que esta característica no se generó en los animales sham (Tendilla-Beltrán, Antonio Vázquez-Roque, et al., 2019).

6.2 Análisis de Sholl

6.2.1 Longitud dendrítica por orden

Se analizó la longitud de las dendritas de neuronas piramidales de la capa III en la Au1, donde se observó un aumento de la longitud de las dendritas en función de su orden, hasta las de tercer orden, siendo estas, en los tres grupos analizados, las de mayor longitud, y disminuyendo en las dendritas de mayor orden.

Se apreció una disminución en la longitud dendrítica, en los animales lesionados, siendo un decremento significativo en las dendritas de tercer, cuarto y quinto orden respecto al grupo intacto y de lesión falsa.

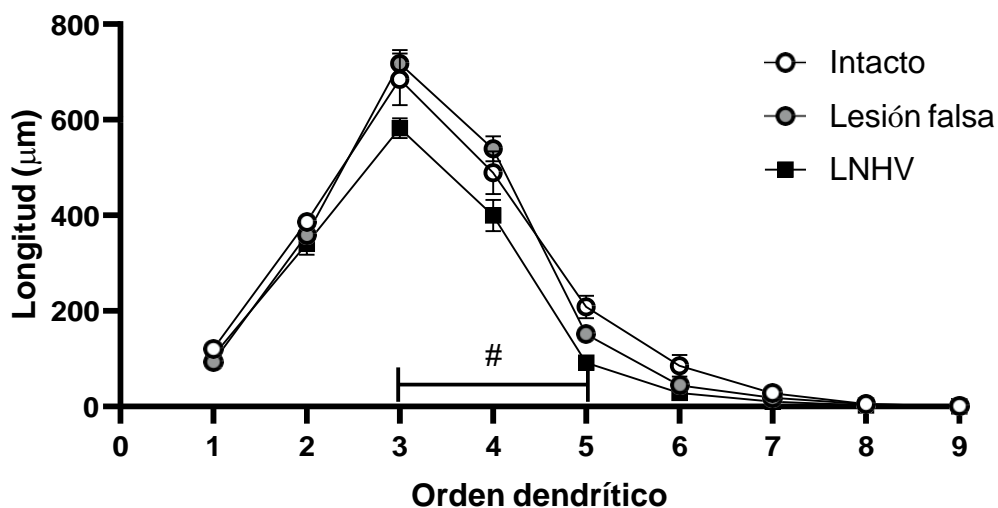


Fig. 7. Longitud dendrítica por orden. Se tomo la longitud tomando en cuenta la distancia del soma a la parte más distal de la dendrita. Los animales lesionados muestran una disminución en la longitud en las dendritas de tercer, cuarto y quinto orden comparado al grupo intacto ($\#p < 0.01$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente) y de lesión falsa ($\#p < 0.001$, $p < 0.001$ y $p < 0.05$, respectivamente). El análisis estadístico fue un ANOVA de dos vías, prueba de Bonferroni post hoc.

6.2.2 Longitud dendrítica total

La longitud dendrítica total se obtuvo mediante la suma de la longitud de todas las dendritas de las neuronas analizadas en el resultado previo. Se encontró una marcada disminución en este parámetro en los animales lesionados en relación a los otros dos grupos ($p < 0.001$), mientras que entre el grupo intacto y de lesión falsa no se encontraron diferencias estadísticamente significativas

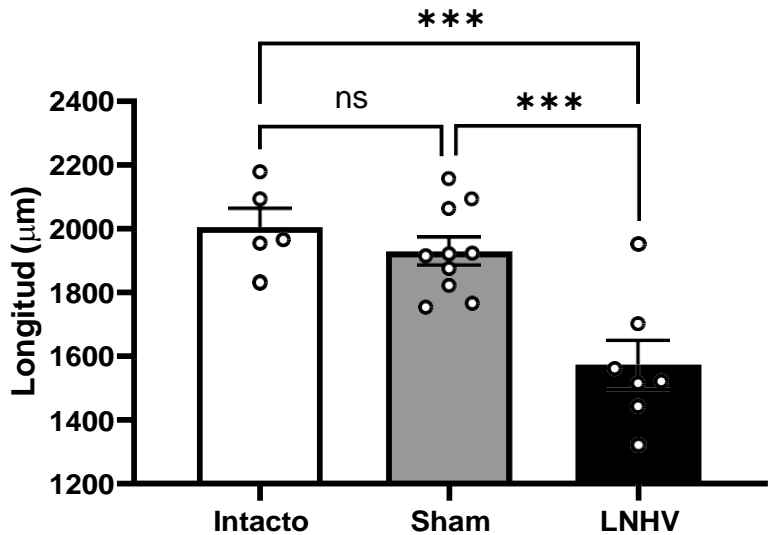


Fig. 8. Longitud dendrítica total. Se tomó en cuenta el promedio de la longitud total de todas las neuronas analizadas por grupo. El grupo de LNHV presenta una disminución estadísticamente significativa en la longitud (** $p < 0.001$). El análisis realizado fue un ANOVA de una vía, prueba de Bonferoni post hoc.

6.2.3 Arborización

Se analizó el grado de complejidad del árbol dendrítico respecto al soma, se observó una disminución en la arborización en la Au1 en los animales con LNHV, puesto que se tuvo una reducción en la longitud del árbol dendrítico a distancias de 40-100, 140 y 150 μm del soma, dicho decremento es estadísticamente significativamente respecto a los grupos intacto y de lesión falsa. Por otro lado, también se encontró una disminución en la arborización a 130 μm de distancia del soma en el grupo lesionado respecto al grupo de lesión falsa, mientras que a los 160 μm también se tuvo una reducción en la longitud del árbol dendrítico en los animales con LNHV respecto al grupo intacto.

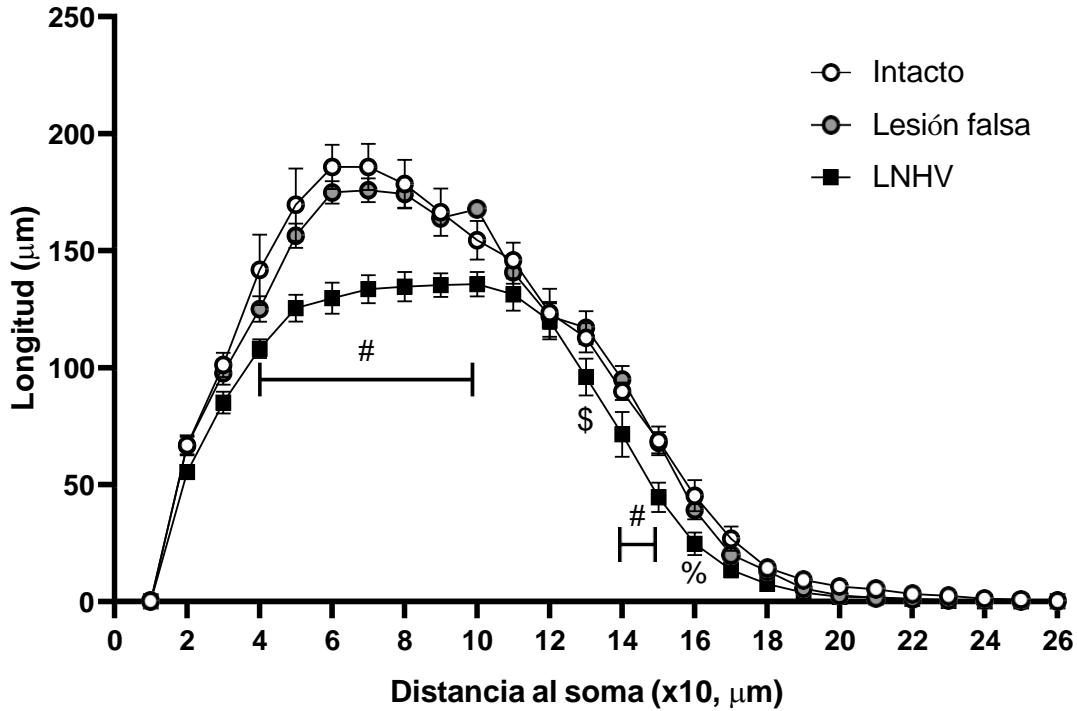


Fig 9. Arborización. Se evaluó la arborización de las neuronas por cada grupo. Se evaluó la longitud del árbol dendrítico, conforme se aleja del soma. El grupo LNHV presenta una disminución en la arborización respecto al intacto y de lesión falsa a 40 (#p<0.001 y p<0.05, respectivamente), 50, 60, 70, 80, 90 (#p<0.001), 100 (#p<0.05 y p<0.001, respectivamente), 140 (p<0.05 y p<0.001, respectivamente), 150 (p<0.01 y p<0.001 respectivamente), 130 (p<0.01, respecto al grupo sham) y 160 μm (p<0.05, respecto al grupo intacto)

6.3 Densidad de espinas dendríticas en la Au1

La densidad de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa III en la Au1 se encuentra reducida en los animales que fueron sometidos a la LNHV, respecto a aquellos que sufrieron solamente la lesión falsa o no tuvieron ningún tipo de intervención, mientras que entre estos dos grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

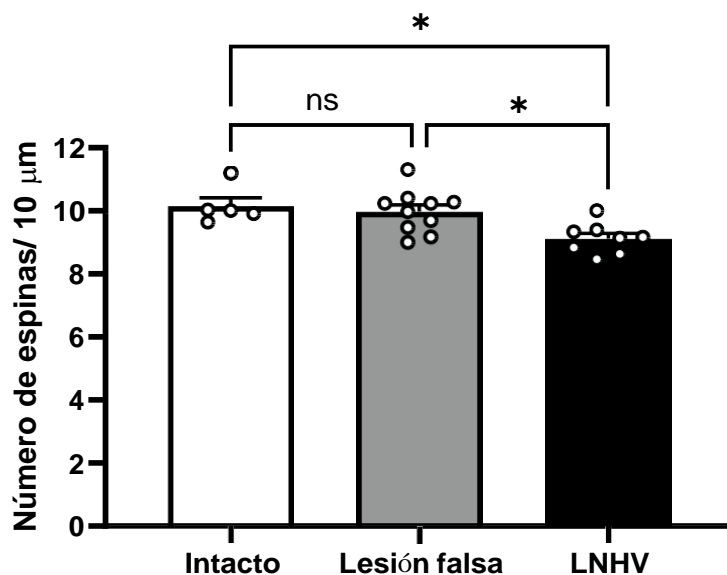


Fig. 10. Análisis de la densidad de espinas dendríticas de la capa III en la Au1. La LNHV es capaz de generar disminuciones en la densidad de espinas dendríticas respecto a animales intactos o con lesión falsa. El análisis estadístico fue un ANOVA de una vía, prueba Bonferroni post hoc. * $p < 0.05$

7. DISCUSIÓN

Los modelos animales del neurodesarrollo empleados para el estudio de la esquizofrenia se encuentran bien establecidos, puesto que las lesiones generadas en etapas post natales son capaces de desencadenar cambios conductuales y en la morfología cerebral, los cuales se correlacionan con las alteraciones mostradas por pacientes esquizofrénicos.

El análisis cualitativo y cuantitativo de las dendritas y sus espinas empleando la técnica de Golgi-Cox es un método usado comúnmente para evaluar los cambios neuronales posterior a la observación de cambios conductuales. Se encontró que las espinas del tipo delgada son las más comunes dentro de la Au1, coincidiendo con lo reportado para las áreas corticales (Humeau et al., 2005), la presencia de una mayor cantidad de espinas tipo delgada sugiere que es una región que sufre procesos de plasticidad sináptica, puesto que este tipo de estructuras, denominadas en algunas ocasiones como “espinas de aprendizaje” son

responsables de formar los nuevos contactos sinápticos y una posterior transformación hacia espinas maduras (Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020).

La longitud dendrítica y el número de espinas se encuentran relacionados al grado de conectividad y de actividad aferente (McAllister, 2000), por lo que, es posible establecer relaciones sobre la conectividad cerebral a través de los parámetros evaluados en este trabajo como la longitud dendrítica, total, longitud dendrítica por orden, arborización y densidad dendríticas.

Estudios empleando otros modelos del desarrollo para la esquizofrenia, como la lesión neonatal de la amígdala basolateral, han encontrado reducción en la densidad de espinas dendríticas en neuronas piramidales de la CPF y de la región CA1 Del hipocampo ventral (Vázquez-Roque et al., 2012), en animales de la misma edad a los evaluados aquí (DP60).

Sweet et al. (2009) mostraron una reducción en la densidad de espinas dendríticas en neuronas piramidales de la capa III en la Aul en tejidos post-mortem de pacientes esquizofrénicos, sin embargo, la técnica empleada no permitía asegurar que la reducción se debía a una disminución en el número de espinas per sé o a una reducción en la detección del marcador empleado, el resultado obtenido aquí, usando la técnica de Golgi-Cox permite relacionar que el decremento en la densidad de las espinas dendríticas sí se debe como tal a un menor número de ellas, sin embargo, la técnica de Golgi-Cox también presenta algunas problemáticas como lo son la tinción aleatoria de las neuronas, lo que puede ocasionar que no se tenga una buena reproducibilidad de los resultados (Ranjan et al., 2010), sin embargo, también se ha considerado esta aleatoriedad en la tinción de las neuronas una ventaja, puesto que permite evaluar segmentos de mayor grosor, proveyendo facilidad en el estudio de la distribución espacial de las dendritas(Smit & Colon, 1969).

La forma del árbol dendrítico es un proceso regulado que ocurre en la etapa del desarrollo, cuando existen afecciones en este proceso, tales como enfermedades o traumatismos, se generan cambios en la forma del árbol dendrítico que desencadena anomalías dentro de los circuitos neuronales (O'Neill et al., 2015). Las alteraciones observadas, tanto en la

arborización, longitud dendrítica total y por orden, así como la densidad de espinas muestran que la LNHV es capaz de generar cambios en la Au1 de forma similar a lo observado en cerebros de pacientes con enfermedades mentales y en otras regiones analizadas como la CPF empleando el mismo modelo animal (Flores et al., 2005).

La presencia de alteraciones en las redes frontotemporales, como lo puede ser una mala conectividad entre los circuitos en sujetos esquizofrénicos se ha relacionado con la aparición de síntomas positivos. Regiones pertenecientes al sistema límbico, tales como la amígdala y el hipocampo, también se encuentran involucradas en el procesamiento auditivo, puesto que reciben entradas directas e indirectas provenientes del sistema auditivo central, así mismo, también se ha mostrado que las eferencias del sistema límbico hacia la corteza auditiva es capaz de modificar su actividad neuronal, incluso modular su plasticidad, puesto que estímulos acústicos que resultan estresantes para el individuo, pueden desencadenar la liberación de hormonas de estrés, teniendo un impacto negativo en la salud (Kraus & Canlon, 2012). Por otro lado, la CPF recibe inputs de la Au1 de forma indirecta, al ser una corteza asociativa, participa en la integración de la información sensorial, seleccionando la información relevante y suprimiendo los estímulos irrelevantes (Medalla & Barbas, 2014; Plakke & Romanski, 2014). Se ha reportado que la LNHV es capaz de generar, además, cambios en la densidad de espinas dendríticas en las neuronas piramidales de la corteza prefrontal dorsolateral, la amígdala basolateral y el núcleo accumbens (Glantz & Lewis, 2000; Tendilla-Beltrán, Antonio Vázquez-Roque, et al., 2019). Dado que el sistema corticolímbico se encuentra involucrado con la percepción de la realidad y la modulación del comportamiento, se considera que la conexión anómala dentro de él se encuentra envuelto en el desarrollo de la sintomatología de la esquizofrenia (Tendilla-Beltrán et al., 2021). Además, estudios de imagenología en pacientes esquizofrénicos han mostrado también que existe activación, en grados variables en la corteza frontal, amígdala e hipocampo durante las alucinaciones auditivas (Dierks et al., 1999). Por lo que, se ha considerado que las alucinaciones auditivas, no se generan a partir de la alteración en una sola región, sino que podrían emerger a partir de cambios principalmente dentro de la Au1, asociado con la existencia de déficits en la CPF, causando un fallo en la interacción frontotemporal (Gaser et al., 2004).

La pérdida de las espinas es de suma importancia, dado que las dendritas y sus espinas son los sitios donde se encuentran la mayoría de los contactos sinápticos, la disminución de la densidad de las espinas así como los cambios tanto en la longitud de las mismas y en la arborización de las neuronas piramidales de la capa III de la corteza auditiva primaria sugiere que los animales con la LNHV podrían tener alteraciones en los inputs sinápticos, ya que de forma fisiológica, las espinas funcionan como sitios terminales de aferencias intracorticales locales, así como también segregan las entradas de frecuencia auditiva, por otro lado, las alteraciones encontradas mediante el análisis de Sholl, sugieren también perturbaciones en los circuitos neuronales, puesto que se tendrían disfunciones en el recibimiento y procesamiento de los inputs, y por lo tanto, outputs perturbados (Flores et al., 2005; McKinney et al., 2019), por lo que dichos hallazgos, podría encontrarse relacionados con fallos en la discriminación de frecuencias y déficits en la plasticidad, puesto que se ha vinculado a las alteraciones presentes en el lóbulo temporal de animales con la LNHV con una disminución en la inhibición del prepulso y en la onda N40 del potencial auditivo evocado, en la Au1, dicha disminución se ha relacionado de forma paralela a la caída en la onda N100 registrada en pacientes esquizofrénicos (Romero-Pimentel et al., 2014), así mismo, en pacientes que presentan aumentos en la actividad de la banda gamma en la Au1 tienen una mayor propensión a desarrollar alucinaciones auditivas (Spencer et al., 2009).

En conjunto, las alteraciones encontradas en la Au1, junto con las reportadas previamente, podrían relacionarse con alteraciones en el procesamiento de la información auditiva desde y hacia la Au1, así mismo, dada la naturaleza y funciones de las regiones corticolímbicas, el fallo en el procesamiento auditivo podría estar asociado con la connotación emocional negativa y el estrés generado por la vivencia de alucinaciones auditivas en pacientes con esquizofrenia.

El principal tratamiento empleado para pacientes esquizofrénicos es el uso de antipsicóticos, se ha observado que los antipsicóticos son capaces de disminuir de forma rápida la severidad de las alucinaciones y después de un año de tratamiento, sólo un 8% de los pacientes aún sufren alucinaciones. Los antipsicóticos atípicos han mostrado una mayor efectividad en la

disminución de estos síntomas respecto a aquellos denominados antipsicóticos típicos, como lo es el haloperidol (Sinkeviciute et al., 2021; Sommer et al., 2012).

Estudios evaluando cambios en la densidad de espinas dendríticas, morfología dendrítica y arborización han mostrado que existe una recuperación de estos parámetros cuando se somete a tratamiento con antipsicóticos, sin embargo, existen pacientes que presentan resistencia farmacológica, puesto que incluso bajo tratamiento con clozapina aún presentan alucinaciones auditivas (Ropohl et al., 2004).

En animales con LNHV se ha observado que el tratamiento con antipsicóticos atípicos como la risperidona y olanzapina son capaces de mejorar las dinámicas de las espinas. El tratamiento con risperidona genera un aumento en la longitud dendrítica total, recuperó la longitud del árbol dendrítico por orden, así como un aumentó la densidad de espinas dendríticas, además, aumentó el número de espinas tipo hongo y redujo las espinas tipo gruesas en la CPF (Tendilla-Beltrán, Meneses-Prado, et al., 2019). Por otro lado, se ha observado, que el tratamiento con clozapina, en animales con LNHV, se genera una recuperación en la longitud dendrítica total en el núcleo accumbens y la amígdala basolateral, así mismo también redujo los cambios observados en la arborización debidos a la lesión (Bringas et al., 2012). Cultivos de neuronas hipocampales han mostrado que la clozapina genera un aumento en la densidad de espinas dendríticas y en las espinas tipo hongo, mientras que el haloperidol no (Critchlow et al., 2006). Se ha reportado que el tratamiento con haloperidol, en monos, sin ningún tipo de lesión, empleando dosis similares a las efectivas en humanos, no se generan cambios en la densidad de espinas dendríticas respecto a controles (Sweet et al., 2009).

También se ha reportado que el tratamiento con olanzapina genera un aumento en la onda N40, en ratones, mientras que el tratamiento con haloperidol no muestra este efecto, por lo que se considera que la olanzapina podría ayudar a mejorar los defectos en la onda N100 observados en pacientes esquizofrénicos (Maxwell et al., 2004).

Debido a la efectividad de los antipsicóticos atípicos en la disminución de las alucinaciones auditivas, mejora en las alteraciones neurofisiológicas, así como mejoras en la morfología

neuronal de otras regiones posiblemente involucradas en el desarrollo de este síntoma, es factible que también exista un restablecimiento en la morfología de las neuronas de la Au1.

8. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se encontraron diversas alteraciones a nivel de morfología neuronal, empleando el modelo de LNHV, tales como la disminución en la densidad de espinas dendríticas, en la longitud dendrítica y arborización. Estos hallazgos son consistentes tanto con las alteraciones reportadas previamente por otros trabajos que han evaluado la Au1 empleando el modelo de LNHV, así como las alteraciones presentadas en pacientes esquizofrénicos.

Anteriormente, se han observado una serie de perturbaciones en el modelo de LNHV en regiones corticales y límbicas, así como conductuales y modificaciones en la recepción de estímulos a nivel tanto sensorial como perceptivo.

Se ha descrito que sujetos con esquizofrenia exhiben déficits en el procesamiento de la información, de estímulos a nivel sensorial y perceptivo, así como alteraciones en la morfología neuronal y dendrítica, los cuales han sido correlacionados con las disfunciones presentadas en el modelo de LNHV, en regiones corticales y límbicas, de acuerdo con la literatura.

De acuerdo con los resultados mostrados aquí, el modelo de LNHV puede proveer un modelo adecuado para el estudio de la Au1 en la esquizofrenia, evaluar cambios a lo largo de la enfermedad, su influencia en la sintomatología presentada que pudiera ser generada por defectos auditivos, tal como las alucinaciones auditivas, así como la funcionalidad de los tratamientos actuales sobre esta región.

9. PERSPECTIVAS

1. Realizar una clasificación de la morfología de espinas dendríticas en la Au1 tanto en animales intactos, sham como con LNHV.

De forma preliminar, se realizó la tipificación de las espinas dendríticas de neuronas piramidales de la capa III de la Au1 solamente en el grupo intacto.

Para ello, se llevó a cabo el conteo y clasificación de 100 espinas consecutivas en dendritas que cumplan las características para la obtención de la densidad, mencionados previamente. Se realizó la visualización empleando un lente 2X, adicional al objetivo de inmersión. De acuerdo con su forma, se clasificarán en 6 grupos: hongo (cabeza bien definida y con cuello distinguible), gruesa (anchas, no se distingue el cuello de la cabeza), delgada (alargadas, cabeza de grosor similar al cuello), bifurcada (el cuello presenta dos cabezas), multicabeza (cuello presenta más de dos cabezas), y sin clasificación (aquellas que no presente ninguna de las características previas), de acuerdo con los criterios establecidos previamente por (Tendilla-Beltrán, Antonio Vázquez-Roque, et al., 2019).



Fig. 11. Clasificación morfológica de las espinas dendríticas. Imagen representativa de los tipos de morfología presentadas por las espinas dendríticas (Modificado de Tendilla-Beltrán et al., 2019)

Se encontró a las espinas del tipo delgado como las predominantes, seguido de las tipo hongo.

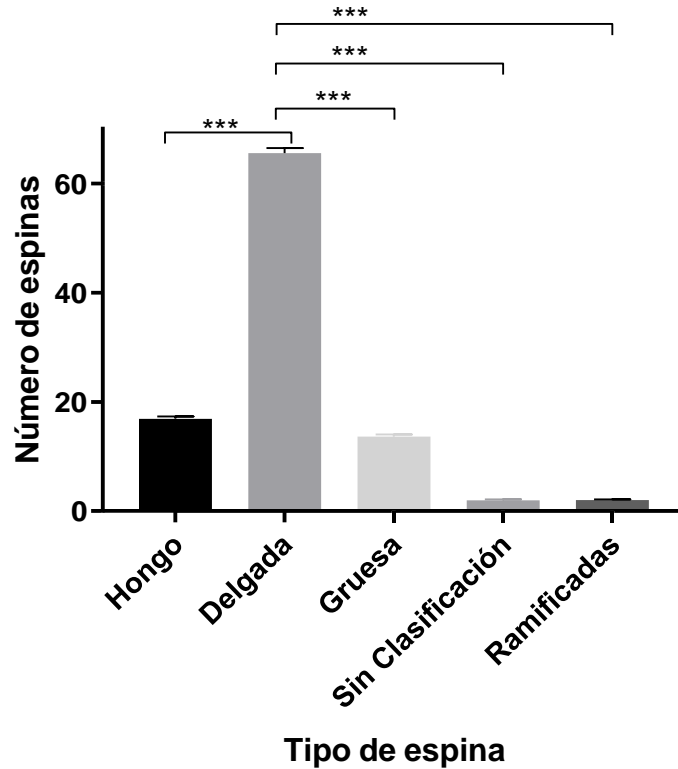


Fig. 12. Morfología de espinas dendríticas en la Au1 en el grupo intacto. Se tomó en cuenta el promedio de cada tipo de espinas. Se encontró una mayor población de espinas delgadas respecto a los otros cuatro tipos ($p < 0.0001$). El análisis estadístico fue un ANOVA de una vía y prueba de Bonferroni post hoc. ** $p < 0.001$

2. Evaluar los cambios tanto estereológicos como en la densidad y morfología de las espinas dendríticas dentro de la Au1 empleando antipsicóticos, que son los fármacos utilizados para el tratamiento de pacientes esquizofrénicos

3. Evaluar otras regiones implicadas en la audición y buscar relaciones entre ellas en la esquizofrenia, tales como el núcleo geniculado medial y la corteza auditiva secundaria.

10. REFERENCIAS

- Allen, P., Modinos, G., Hubl, D., Shields, G., Cacia, A., Jardri, R., Thomas, P., Woodward, T., Shotbolt, P., Plaze, M., & Hoffman, R. (2012). Neuroimaging auditory hallucinations in schizophrenia: From neuroanatomy to neurochemistry and beyond. *Schizophrenia Bulletin*, 38(4), 695–703. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs066>
- American Psychiatric Association. (2013). *American Psychiatric Association: Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. American Psychiatric Publishing, Arlington, USA.
- Atencio, C. A., & Schreiner, C. E. (2010). Columnar Connectivity and Laminar Processing in Cat Primary Auditory Cortex. *PLOS ONE*, 5(3), e9521. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0009521>
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). *Neuroscience: exploring the brain* (four). Wolters Kluwer. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000001303>
- Boksa, P. (2009). On the neurobiology of hallucinations. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 34(4), 260–262.
- Brady, A. M. (2016). The neonatal ventral hippocampal lesion (NVHL) rodent model of schizophrenia. *Current Protocols in Neuroscience*, 2016(October), 9.55.1-9.55.17. <https://doi.org/10.1002/cpns.15>
- Bringas, M. E., Morales-Medina, J. C., Flores-Vivaldo, Y., Negrete-Diaz, 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(4), 1848–1857. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2011.12.008>
- Chambers, R. A., & Sentir, A. M. (2020). Integrated Effects of Neonatal Ventral Hippocampal Lesions and Impoverished Social-Environmental Rearing on Endophenotypes of Mental Illness and Addiction Vulnerability. *Developmental Neuroscience*. <https://doi.org/10.1159/000506227>
- Chidambaram, S. B., Rathipriya, A. G., Bolla, S. R., Bhat, A., Ray, B., Mahalakshmi, A. M., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Essa, M. M., Guillemin, G. J., Chandra, R., & Sakharkar, M. K. (2019). Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Progress*

- in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 92(July 2018), 161–193.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.01.005>
- Clark, Samuel D., Van Snellenberg, J. X., Lawson, J. M., & Abi-Dargham, A. (2020). Opioid antagonists are associated with a reduction in the symptoms of schizophrenia: a meta-analysis of controlled trials. *Neuropsychopharmacology* 2020 45:11, 45(11), 1860–1869. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0730-z>
- Clark, Samuel David, & Abi-Dargham, A. (2019). The Role of Dynorphin and the Kappa Opioid Receptor in the Symptomatology of Schizophrenia: A Review of the Evidence. *Biological Psychiatry*, 86(7), 502–511.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2019.05.012>
- Critchlow, H. M., Maycox, P. R., Skepper, J. N., & Krylova, O. (2006). Clozapine and haloperidol differentially regulate dendritic spine formation and synaptogenesis in rat hippocampal neurons. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 32(4), 356–365.
<https://doi.org/10.1016/J.MCN.2006.05.007>
- Dierks, T., Linden, D. E. J., Jandl, M., Formisano, E., Goebel, R., Lanfermann, H., & Singer, W. (1999). Activation of Heschl's Gyrus during Auditory Hallucinations. *Neuron*, 22(3), 615–621. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80715-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80715-1)
- Dorph-Petersen, K. A., Delevich, K. M., Marcisins, M. J., Zhang, W., Sampson, A. R., Gundersen, H. J. G., Lewis, D. A., & Sweet, R. A. (2009). Pyramidal neuron number in layer 3 of primary auditory cortex of subjects with schizophrenia. *Brain Research*, 1285, 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.06.019>
- Doucet, G. E., Lubner, M. J., Balchandani, P., Sommer, I. E., & Frangou, S. (2019). Abnormal auditory tonotopy in patients with schizophrenia. *Npj Schizophrenia*, 5(1), 1–6.
<https://doi.org/10.1038/s41537-019-0084-x>
- Flores, G. (2016). Role of the prefrontal cortex in the neonatal ventral hippocampus lesion, an animal model of schizophrenia. *Journal of Neurology and Neuromedicine*, 1(3), 35–39. <https://doi.org/10.29245/2572.942x/2016/3.1024>
- Flores, G., Alquicer, G., Silva-Gómez, A. B., Zaldivar, G., Stewart, J., Quirion, R., & Srivastava, L. K. (2005). Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus. *Neuroscience*, 133(2), 463–470.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.02.021>

- Flores, G., & Morales-medina, J. C. (2016). Effect of Neuroleptic Administration on Neuronal Changes and Nitric Oxide in a Rat Model of Schizophrenia. *Annals of Psychiatry and Mental Health, 4*, 4–9.
- Flores, G., Morales-Medina, J. C., & Diaz, A. (2016). Neuronal and brain morphological changes in animal models of schizophrenia. *Behavioural Brain Research, 301*, 190–203. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.034>
- Frandolig, J. E., Matney, C. J., Lee, K., Kim, J., Chevée, M., Kim, S. J., Bickert, A. A., & Brown, S. P. (2019). The Synaptic Organization of Layer 6 Circuits Reveals Inhibition as a Major Output of a Neocortical Sublamina. *Cell Reports, 28*(12), 3131-3143.e5. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2019.08.048>
- Fröhlich, F. (2016). Schizophrenia. *Network Neuroscience, 309–318*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801560-5.00025-2>
- Gaser, C., Nenadic, I., Volz, H. P., Büchel, C., & Sauer, H. (2004). Neuroanatomy of “hearing voices”: a frontotemporal brain structural abnormality associated with auditory hallucinations in schizophrenia. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991), 14*(1), 91–96. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHG107>
- Glantz, L. A., & Lewis, D. A. (2000). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry, 57*(1), 65–73. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.57.1.65>
- Glausier, J. R., & Lewis, D. A. (2013). Dendritic spine pathology in schizophrenia. *Neuroscience, 251*, 90–107. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.04.044>
- Goaillard, J.-M., Moubarak, E., Tapia, M., & Tell, F. (2019). Diversity of Axonal and Dendritic Contributions to Neuronal Output. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 13*. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2019.00570>
- Hoffman, R. E., Hampson, M., Wu, K., Anderson, A. W., Gore, J. C., Buchanan, R. J., Constable, R. T., Hawkins, K. A., Sahay, N., & John, H. (2009). *Probing the Pathophysiology of Auditory/Verbal Hallucinations by Combining Functional Magnetic Resonance Imaging and Transcranial Magnetic Stimulation. 17*(11), 2733–2743. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl183>. Probing
- Humeau, Y., Herry, C., Kemp, N., Shaban, H., Fourcaudot, E., Bissière, S., & Lüthi, A.

- (2005). Dendritic spine heterogeneity determines afferent-specific Hebbian plasticity in the amygdala. *Neuron*, 45(1), 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.12.019>
- Jardri, R., Hugdahl, K., Hughes, M., Brunelin, J., Waters, F., Alderson-Day, B., Smailes, D., Sterzer, P., Corlett, P. R., Leptourgos, P., Debbané, M., Cachia, A., & Denève, S. (2016). Are hallucinations due to an imbalance between excitatory and inhibitory influences on the brain? *Schizophrenia Bulletin*, 42(5), 1124–1134. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw075>
- Kalus, P., Muller, T. J., Zusratter, W., & Senitz, D. (2000). The dendritic architecture of prefrontal pyramidal neurons in schizophrenic patients. *NeuroReport*, 11(16), 3621–3625. <https://doi.org/10.1097/00001756-200011090-00044>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., Hudspeth, A. J., & Mack, S. (2013). *Principles of neural sciences* (Fifth edit). McGraw Hill Medical.
- Konopaske, G. T., Lange, N., Coyle, J. T., & Benes, F. M. (2014). Prefrontal cortical dendritic spine pathology in schizophrenia and bipolar disorder. *JAMA Psychiatry*, 71(12), 1323. <https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2014.1582>
- Kraus, K. S., & Canlon, B. (2012). Neuronal connectivity and interactions between the auditory and limbic systems. Effects of noise and tinnitus. *Hearing Research*, 288(1–2), 34–46. <https://doi.org/10.1016/J.HEARES.2012.02.009>
- Larøi, F., Thomas, N., Aleman, A., Fernyhough, C., Wilkinson, S., Deamer, F., & McCarthy-Jones, S. (2019). The ice in voices: Understanding negative content in auditory-verbal hallucinations. *Clinical Psychology Review*, 67(March 2017), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2018.11.001>
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Overview of Neuron Structure and Function*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21535/>
- MacDonald, M. L., Garver, M., Newman, J., Sun, Z., Kannarkat, J., Salisbury, R., Glausier, J., Ding, Y., Lewis, D. A., Yates, N., & Sweet, R. A. (2020). Synaptic Proteome Alterations in the Primary Auditory Cortex of Individuals with Schizophrenia. *JAMA Psychiatry*, 77(1), 86–95. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.2974>
- Malmierca, M. S., & Ryugo, D. K. (2011). Descending Connections of Auditory Cortex to the Midbrain and Brain Stem. *The Auditory Cortex*, 189–208.

https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0074-6_9

- Maxwell, C. R., Liang, Y., Weightman, B. D., Kaness, S. J., Abel, T., Gur, R. E., Turetsky, B. I., Bilker, W. B., Lenox, R. H., & Siegel, S. J. (2004). Effects of Chronic Olanzapine and Haloperidol Differ on the Mouse N1 Auditory Evoked Potential. *Neuropsychopharmacology* 2004 29:4, 29(4), 739–746. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300376>
- McAllister, A. K. (2000). Cellular and Molecular Mechanisms of Dendrite Growth. *Cerebral Cortex*, 10(10), 963–973. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/10.10.963>
- McCutcheon, R. A., Reis Marques, T., & Howes, O. D. (2020). Schizophrenia - An Overview. *JAMA Psychiatry*, 77(2), 201–210. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.3360>
- McKinney, B. C., MacDonald, M. L., Newman, J. T., Shelton, M. A., DeGiosio, R. A., Kelly, R. M., Fish, K. N., Sampson, A. R., Lewis, D. A., & Sweet, R. A. (2019). Density of small dendritic spines and microtubule-associated-protein-2 immunoreactivity in the primary auditory cortex of subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 44(6), 1055–1061. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0350-7>
- Medalla, M., & Barbas, H. (2014). Specialized prefrontal “auditory fields”: Organization of primate prefrontal-temporal pathways. *Frontiers in Neuroscience*, 0(8 APR), 77. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2014.00077/BIBTEX>
- Modinos, G., Costafreda, S. G., Van Tol, M. J., McGuire, P. K., Aleman, A., & Allen, P. (2013). Neuroanatomy of auditory verbal hallucinations in schizophrenia: A quantitative meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Cortex*, 49(4), 1046–1055. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2012.01.009>
- Moerel, M., De Martino, F., Uğurbil, K., Yacoub, E., & Formisano, E. (2019). Processing complexity increases in superficial layers of human primary auditory cortex. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41965-w>
- Mørch-Johnsen, L., Nesvåg, R., Jørgensen, K. N., Lange, E. H., Hartberg, C. B., Haukvik, U. K., Kompus, K., Westerhausen, R., Osnes, K., Andreassen, O. A., Melle, I., Hugdahl, K., & Agartz, I. (2017). Auditory cortex characteristics in schizophrenia: Associations with auditory hallucinations. *Schizophrenia Bulletin*, 43(1), 75–83. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw130>

- Moseley, P., Fernyhough, C., & Ellison, A. (2013). Auditory verbal hallucinations as atypical inner speech monitoring, and the potential of neurostimulation as a treatment option. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *37*(10), 2794–2805. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.10.001>
- Moyer, C. E., Shelton, M. A., & Sweet, R. A. (2015). Dendritic spine alterations in schizophrenia. *Neuroscience Letters*, *601*, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.11.042>
- O'Neill, K. M., Akum, B. F., Dhawan, S. T., Kwon, M., Langhammer, C. G., & Firestein, B. L. (2015). Assessing effects on dendritic arborization using novel Sholl analyses. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *0*(JULY), 285. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2015.00285>
- Ohi, K., Shimada, T., Nemoto, K., Kataoka, Y., Yasuyama, T., Kimura, K., Okubo, H., Uehara, T., & Kawasaki, Y. (2017). Cognitive clustering in schizophrenia patients, their first-degree relatives and healthy subjects is associated with anterior cingulate cortex volume. *NeuroImage: Clinical*, *16*(August), 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.08.008>
- Onitsuka, T., Oribe, N., & Kanba, S. (2013). Neurophysiological findings in patients with bipolar disorder. *Supplements to Clinical Neurophysiology*, *62*, 197–206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5307-8.00013-2>
- Opris, I. (2013). Inter-laminar microcircuits across neocortex: repair and augmentation. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *0*, 80. <https://doi.org/10.3389/FNSYS.2013.00080>
- Opris, I., & Casanova, M. F. (2014). Prefrontal cortical minicolumn: from executive control to disrupted cognitive processing. *Brain*, *137*(7), 1863–1875. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWT359>
- Opris, I., Chang, S., & Noga, B. R. (2017). What Is the Evidence for Inter-laminar Integration in a Prefrontal Cortical Minicolumn? *Frontiers in Neuroanatomy*, *0*, 116. <https://doi.org/10.3389/FNANA.2017.00116>
- Parlikar, R., Bose, A., & Venkatasubramanian, G. (2019). Schizophrenia and Corollary Discharge: A Neuroscientific Overview and Translational Implications. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, *17*(2), 170. <https://doi.org/10.9758/CPN.2019.17.2.170>

- Pchitskaya, E., & Bezprozvanny, I. (2020). Dendritic Spines Shape Analysis—Classification or Clusterization? Perspective. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 12(September). <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2020.00031>
- Penagos-Corzo, J. C., Bonilla, A., Rodríguez-Moreno, A., Flores, G., & Negrete-Díaz, J. V. (2015). Conditional self-discrimination enhances dendritic spine number and dendritic length at prefrontal cortex and hippocampal neurons of rats. *Synapse*, 69(11), 543–552. <https://doi.org/10.1002/syn.21847>
- Peterson, D. C., Reddy, V., & Hamel, R. N. (2021). Neuroanatomy, Auditory Pathway. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532311/>
- Plakke, B., & Romanski, L. M. (2014). Auditory connections and functions of prefrontal cortex. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 0, Issue 8 JUL, p. 199). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00199>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001). *The Auditory Cortex*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10900/>
- Ranjan, A., Nath Mallick, B., Aguilar-Roblero, R., Nacional Autónoma de México, U., & Joaquin Reyes Tellez Giron, M. (2010). A modified method for consistent and reliable Golgi-Cox staining in significantly reduced time. *Article*, 1(1). <https://doi.org/10.3389/fneur.2010.00157>
- Romero-Pimentel, A. L., Vázquez-Roque, R. A., Camacho-Abrego, I., Hoffman, K. L., Linares, P., Flores, G., & Manjarrez, E. (2014). Histological correlates of N40 auditory evoked potentials in adult rats after neonatal ventral hippocampal lesion: Animal model of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 159(2–3), 450–457. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.09.009>
- Ropohl, A., Sperling, W., Elstner, S., Tomandl, B., Reulbach, U., Kaltenhäuser, M., Kornhuber, J., & Maihöfner, C. (2004). Cortical activity associated with auditory hallucinations. *Neuroreport*, 15(3), 523–526. <https://doi.org/10.1097/00001756-200403010-00028>
- Ross, C. A., Margolis, R. L., Reading, S. A. J., Pletnikov, M., & Coyle, J. T. (2006). Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron*, 52(1), 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.015>

- Schwartz, T. L., Sachdeva, S., & Stahl, S. M. (2012). Glutamate Neurocircuitry: Theoretical Underpinnings in Schizophrenia. *Frontiers in Pharmacology*, 0, 195. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2012.00195>
- Shekhar, A. (2019). Role of Kappa Opioid Receptors in Symptoms of Schizophrenia: What Is the Neurobiology? In *Biological Psychiatry* (Vol. 86, Issue 7, pp. 494–496). Biol Psychiatry. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.08.004>
- Sinkeviciute, I., Hugdahl, K., Bartz-Johannessen, C., Kroken, R. A., Løberg, E. M., Kjelby, E., Rettenbacher, M. A., Joa, I., Reitan, S. K., Alisauskiene, R., Fathian, F., & Johnsen, E. (2021). Differential Effectiveness of Atypical Antipsychotics on Hallucinations: A Pragmatic Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 41(4), 389–396. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001403>
- Smit, G. J., & Colon, E. J. (1969). Quantitative analysis of the cerebral cortex. I. Aselectivity of the golgi-cox staining technique. *Brain Research*, 13(3), 485–510. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(69\)90262-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90262-5)
- Sommer, I. E. C., Slotema, C. W., Daskalakis, Z. J., Derks, E. M., Blom, J. D., & Van Der Gaag, M. (2012). The Treatment of Hallucinations in Schizophrenia Spectrum Disorders. *Schizophrenia Bulletin*, 38(4), 704. <https://doi.org/10.1093/SCHBUL/SBS034>
- Spencer, K. M., Niznikiewicz, M. A., Nestor, P. G., Shenton, M. E., & McCarley, R. W. (2009). Left auditory cortex gamma synchronization and auditory hallucination symptoms in schizophrenia. *BMC Neuroscience*, 10(1), 85. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-85/TABLES/2>
- Steinmann, S., Leicht, G., & Mulert, C. (2019). The interhemispheric miscommunication theory of auditory verbal hallucinations in schizophrenia. *International Journal of Psychophysiology*, 145(February), 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2019.02.002>
- Sweet, R. A., Bergen, S. E., Sun, Z., Sampson, A. R., Pierri, J. N., & Lewis, D. A. (2004). Pyramidal cell size reduction in schizophrenia: Evidence for involvement of auditory feedforward circuits. *Biological Psychiatry*, 55(12), 1128–1137. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.03.002>
- Sweet, R. A., Henteloff, R. A., Zhang, W., Sampson, A. R., & Lewis, D. A. (2009). Reduced

- dendritic spine density in auditory cortex of subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 34(2), 374–389. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.67>
- Tang, S. W., & Tang, W. H. (2020). Hallucinations: Diagnosis, neurobiology and clinical management. *International Clinical Psychopharmacology*, 293–299. <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000313>
- Tendilla-Beltrán, H., Antonio Vázquez-Roque, R., Judith Vázquez-Hernández, A., Garcés-Ramírez, L., & Flores, G. (2019). Exploring the Dendritic Spine Pathology in a Schizophrenia-related Neurodevelopmental Animal Model. *Neuroscience*, 396(November), 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.006>
- Tendilla-Beltrán, 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. *Journal of Neuroscience*, 39(43), 8584–8599. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1249-19.2019>
- Tendilla-Beltrán, H., Sanchez-Islas, N. del C., Marina-Ramos, M., Leza, J. C., & Flores, G. (2021). The prefrontal cortex as a target for atypical antipsychotics in schizophrenia, lessons of neurodevelopmental animal models. *Progress in Neurobiology*, 199(October), 101967. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101967>
- Thakur, T., & Gupta, V. (2021). Auditory Hallucinations. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557633/>
- Tseng, K. Y., Chambers, R. A., & Lipska, B. K. (2009). The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, 204(2), 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.039>
- Ugur, M., Derouiche, L., & Massotte, D. (2018). Heteromerization Modulates mu Opioid Receptor Functional Properties in vivo. *Frontiers in Pharmacology*, 0(NOV), 1240. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.01240>
- Ursini, G., Punzi, G., Chen, Q., Marenco, S., Robinson, J. F., Porcelli, A., Hamilton, E. G., Mitjans, M., Maddalena, G., Begemann, M., Seidel, J., Yanamori, H., Jaffe, A. E., Berman, K. F., Egan, M. F., Straub, R. E., Colantuoni, C., Blasi, G., Hashimoto, R., ... Weinberger, D. R. (2018). Convergence of placenta biology and genetic risk for

- schizophrenia article. *Nature Medicine*, 24(6), 792–801.
<https://doi.org/10.1038/s41591-018-0021-y>
- van Lutterveld, R., Sommer, I. E. C., & Ford, J. M. (2011). The neurophysiology of auditory hallucinations - A historical and contemporary review. *Frontiers in Psychiatry*, 2(MAY), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2011.00028>
- Vázquez-Roque, R. A., Solis, O., Camacho-Abrego, I., Rodríguez-Moreno, A., De La Cruz, F., Zamudio, S., & Flores, G. (2012). Dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex and ventral hippocampus of rats with neonatal amygdala lesion. *Synapse*, 66(5), 373–382. <https://doi.org/10.1002/syn.21517>
- von Bohlen und Halbach, O. (2013). Analysis of morphological changes as a key method in studying psychiatric animal models. *Cell and Tissue Research* 2013 354:1, 354(1), 41–50. <https://doi.org/10.1007/S00441-012-1547-9>
- Voss, P., Thomas, M. E., Guercio, G. D., & de Villiers-Sidani, E. (2019). Dysregulation of auditory neuroplasticity in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 207, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.04.025>
- Weber, S., Hjelmervik, H., Craven, A. R., Johnsen, E., Kroken, R. A., Løberg, E.-M., Erslund, L., Kompus, K., & Hugdahl, K. (2021). Glutamate- and GABA-Modulated Connectivity in Auditory Hallucinations—A Combined Resting State fMRI and MR Spectroscopy Study. *Frontiers in Psychiatry*, 0, 135.
<https://doi.org/10.3389/FPSYT.2021.643564>
- Winship, I. R., Dursun, S. M., Baker, G. B., Balista, P. A., Kandratavicius, L., Maia-de-Oliveira, J. P., Hallak, J., & Howland, J. G. (2019). An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. *Canadian Journal of Psychiatry*, 64(1), 5–17. <https://doi.org/10.1177/0706743718773728>
- Zmigrod, L., Garrison, J. R., Carr, J., & Simons, J. S. (2016). The neural mechanisms of hallucinations: A quantitative meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 69, 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.037>