

Exposición al cadmio y efectos neurotóxicos en corteza prefrontal.

A. Romero, T. Cabaleiro, E. Fernández-Rodríguez, A. Lafuente.  
Laboratorio de Toxicología, Facultad de Ciencias, Universidad de Vigo,  
Campus de Ourense,  
Las Lagunas s/n, 32004 - Ourense. armbio@uvigo.es

## RESUMEN

La neurotoxicidad del cadmio es conocida en distintas regiones cerebrales, pero no tanto en la corteza prefrontal (CPF). Por ello, el objetivo del presente trabajo es estudiar las alteraciones que conlleva la administración oral y subcrónica de cadmio en rata macho adulta sobre los ritmos circadianos de las aminas biógenas y el metabolismo de la dopamina y de la serotonina en la CPF. Para ello, el cadmio se administró a un grupo de 60 ratas adultas en forma de cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ) disuelto en el agua de bebida, a una dosis de 25 ppm, durante 30 días. Al final del tratamiento, los animales fueron sacrificados e inmediatamente se obtuvo, por disección del cerebro, la CPF de cada animal para la posterior determinación de las aminas biógenas y sus principales metabolitos, mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica (HPLC-EQ). En los animales expuestos al cadmio, el ritmo circadiano de norepinefrina en la CPF estaba muy alterado y, se observó un aumento de los niveles medios a lo largo del día de la concentración de dopamina (DA), y un descenso de la tasa de recambio de esta catecolamina (expresada como el índice DOPAC/DA). La exposición al cadmio indujo también variaciones importantes en el patrón diario del ácido 5-hidroxiindolacético (principal metabolito de la serotonina) y la desaparición del ritmo circadiano de esta indolamina.

Palabras clave: cadmio, corteza prefrontal, aminas biógenas, ritmos circadianos.

1

✓

Cadmium exposure and neurotoxic effects in the prefrontal cortex

Cadmium neurotoxicity is known in different brain areas, but not as much in the prefrontal cortex (CPF). The objective of the present work is to study the changes induced by cadmium on the circadian patterns of the biogenic amines and the metabolism of the dopamine and the

serotonin in this brain area in. Cadmium has been administered for 30 days like cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>), at a dose 25 ppm dissolved in the drinking water. Biogenic amines and their main metabolites were measured within in CPF through HPLC-EQ. In cadmium treated rats, norepinefrine circadian pattern was modified, mean levels of dopamine (DA) were increased while dopamine metabolism (expressed as the DOPAC/DA rate) decreased. The exposure to the cadmium induced also important changes in the daily pattern of the 5-hydroxyindolacetic acid (main metabolite of the serotonin) and the disappearance of the circadian pattern of this indolamine.

Keywords: Cadmium, prefrontal cortex, biogenic amines, circadian rhythms

## INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado ampliamente que el cadmio se acumula en el sistema nervioso central [1-3] y provoca efectos neurotóxicos [8,11]. En este sentido, diversos estudios de distintos autores y de nuestro grupo de investigación han evidenciado que la exposición a este metal pesado conlleva alteraciones de diversa índole en las aminas biógenas en distintas regiones cerebrales [3-6,11]. Más concretamente, en roedores adultos expuestos al cadmio a través del agua de bebida, se han observado cambios importantes en el ritmo circadiano de la concentración de aminas biógenas en distintas regiones hipotalámicas [11].

2

✓

La corteza prefrontal (CPF), anatómicamente se corresponde con la parte rostral del lóbulo frontal, limitada por la grieta precentral inferior, recibe fibras aferentes de diversas estructuras del diencefalo, como es el núcleo mediodorsal del tálamo, del mesencefalo y del sistema límbico. Experimentalmente se ha demostrado que las vías eferentes de la CPF modulan la secreción de la dopamina (DA) en áreas subcorticales como el estriado [12]. Hay evidencia de que, en la rata, esto ocurre directamente, mediante proyecciones cortico-estriatales glutamatergicas [13], e indirectamente, por un efecto sobre las neuronas mesoestriatales de la DA en el cerebro medio [12]. Esta modulación puede ser relevante en patologías como el Parkinson, la esquizofrenia, o la

depresión [14-16].

En la CPF la actividad neuronal está bajo el control de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico, activándose ambos en situaciones de estrés, de forma específica [17].

Algunas neuronas dopaminérgicas de la CPF se proyectan hacia diversas zonas subcorticales, como son el hipotálamo, la sustancia negra y el área tegmental ventral (ATV) [18]. Por lo que la CPF podría modular los niveles dopaminérgicos en núcleos localizados fuera de la propia CPF, como es el núcleo accumbens [19].

Aunque la serotonina parece estar distribuida uniformemente a lo largo de la CPF, su principal metabolito (el ácido 5-hidroxiindolacético) presenta un gradiente exactamente complementario al de la dopamina, lo que sugiere una posible interacción entre los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico, involucrados ambos en varios desórdenes psiquiátricos con disfunciones emocionales [20].

El objetivo del presente trabajo es estudiar las alteraciones que induce la administración oral y subcrónica de cadmio en rata macho adulta sobre los ritmos circadianos de las aminas biógenas y el metabolismo de la dopamina y de la serotonina en la corteza prefrontal.

3

✓

## MATERIALES Y METODOS

Animales y diseño experimental.-En este trabajo se han utilizado ratas macho adultas (de 3 meses de edad) de la cepa Wistar, y se mantuvieron en condiciones ambientales constantes. La temperatura fue de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . La iluminación fue artificial mediante lámparas fluorescentes, controlada automáticamente con ciclos de 14 horas de luz (de 7:00h a 21:00h.) y 10 horas de oscuridad. Se han alimentado con pienso compuesto (Panlab) y agua ad libitum. El cadmio se administró a un grupo de 36 ratas adultas en forma de cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ) disuelto en el agua de bebida, a una dosis de 25 ppm, durante 30 días. A otras 36 ratas adultas se administró agua potable del suministro de la Facultad, y se utilizaron como controles del experimento. Se sacrificaron seis animales de cada grupo experimental (control y tratados) cada cuatro horas

durante un periodo de 24 horas (a las 08:00, 12:00, 16:00, 20:00, 00:00 y 04:00 h), por decapitación y sin anestesia previa.

Preparación de las muestras y Cuantificación de aminas.-Inmediatamente después del sacrificio de los animales, se obtuvo, por disección del cerebro, la CPF de cada animal, para la posterior determinación de las aminas biógenas. La extracción y cuantificación de las aminas biógenas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-EQ) se realizó según la metodología seguida en trabajos previos del grupo [3,11].

Análisis estadístico.-Se ha aplicado el test de la varianza (ANOVA) de una vía seguido del test de Tukey para comparaciones múltiples. Los valores de las figuras se expresan como la media aritmética más/menos el error estándar de la media ( $X \pm E.E.M.$ ). El nivel de confianza a partir del cual las diferencias entre las medias fueron consideradas significativas fue mayor o igual del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

4

~

## RESULTADOS

En la Fig. 1 se representa el patrón del contenido de norepinefrina (NE) en CPF en rata macho adulta y en los animales expuestos al cadmio. La concentración de NE en los animales adultos varía de forma circadiana (Fig. 1;  $F=23,011$ ;  $P=0,001$ ); concretamente se observa un pico durante la mañana, existiendo valores máximos a las 08:00h ( $P=0,001$  vs. 04:00, 16:00, 20:00 y 00:00h, y  $P=0,05$  vs.12:00h), y a las 12:00 h ( $P=0,001$  vs. 04:00, 16:00, 20:00 y 00:00h). La exposición al cadmio induce en la concentración de esta amina variaciones significativas a lo largo del día ( $F=9,52$ ;  $P=0,001$ ), con valores mínimos, a las 20:00h ( $P=0,001$  vs. a las 16:00 y a las 04:00h;  $P=0,01$  vs. a las 08:00, 12:00 y 00:00h, y máximos a las 16:00 y a las 04:00h. La exposición al metal no conlleva variaciones significativas de los niveles medios de NE a lo largo del día (Fig. 1), aunque la concentración de esta catecolamina disminuye a las 12:00h y a las 20:00h ( $P=0,01$  y  $P=0,001$  vs. el grupo control, respectivamente) y aumentan a las 16:00h y a las 04:00h ( $P=0,001$  y  $P=0,01$  vs. el grupo control, respectivamente).

En la Fig. 2 se muestra el patrón del contenido de DA en CPF en rata

macho adulta y en los animales expuestos al cadmio. La concentración de DA varía de forma circadiana en los animales adultos no expuestos al metal (Fig. 2;  $F=15,14$ ;  $P=0,001$ ); concretamente se observan dos mínimos a las 12:00 h ( $P=0,001$  vs. 08:00h y  $P=0,01$  vs. 16:00 y 20:00h) y a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. 08:00, 16:00 y 20:00h). La exposición al cadmio conlleva variaciones significativas a lo largo del día en la concentración de esta amina ( $F=17,82$ ;  $P=0,01$ ), con un pico de gran amplitud a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. a las 08:00, 12:00, 16:00, 20:00 y 00:00h) e induce un aumento de los niveles medios de DA a lo largo del día (Fig. 2); concretamente aumenta a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. el grupo control).

5

✓

Como se observa en la Fig. 3, en los animales adultos no expuestos al cadmio la concentración de DOPAC varía de forma circadiana (Fig. 3;  $F=7,06$ ;  $P=0,001$ ); concretamente muestra valores máximos a las 08:00h ( $P=0,001$  vs. 20:00h;  $P=0,01$  vs. 04:00 y 16:00h;  $P=0,05$  vs. 00:00h) y mínimos a las 20:00 h ( $P=0,05$  vs. 12:00h). El efecto del cadmio en el patrón diario del contenido de DOPAC (Fig. 3) presenta variaciones significativas a lo largo del día ( $F=2,97$ ;  $P=0,05$ ), con valores máximos a las 04:00h ( $P=0,01$  vs. a las 20:00h) y mínimos a las 20:00h. La exposición a este metal no conlleva variaciones significativas de los niveles medios del metabolito a lo largo del día (Fig. 3), aunque aumenta a las 4:00h ( $P=0,001$  vs. el grupo control).

En la Fig. 4 se observa que el contenido del índice DOPAC/DA de los animales adultos no expuestos al cadmio varía de forma circadiana (Fig. 4;  $F=21,85$ ;  $P=0,001$ ); mostrando dos picos: uno durante la fase diurna y otro durante la fase de oscuridad. Más concretamente, se observan valores máximos a las 12:00h ( $P=0,001$  vs. 08:00, 16:00, 20:00 y 00:00 y  $P=0,001$  vs. 04:00h) y a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. 16:00 y 20:00h).

El efecto del cadmio en dicho índice presenta variaciones significativas a lo largo del día ( $F=21,76$ ;  $P=0,001$ ), con un pico durante la fase luminosa del fotoperiodo (a las 12:00h  $P=0,001$  vs. a las 04:00 y a las 20:00h;  $P=0,01$  vs. a las 00:00h;  $P=0,05$  vs. 8:00 y 16:00 h), y otro segundo pico durante la fase oscura del día (a las 00:00h:  $P=0,001$  v

s. a las 04:00, 08:00, 16:00 y

20:00 h;  $P=0,01$  vs. a las 12:00h). Este metal induce un descenso de los valores medios a lo largo del día de la ratio DOPAC/DA (Fig.4;  $F=26,75$ ;  $P=0,001$ ), siendo estadísticamente significativo a las 12:00 y a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. el grupo control). Como muestra la Fig. 5 la concentración de 5-HT en CPF en animales adultos varía de forma circadiana (Fig. 5;  $F=9,99$ ;  $P=0,001$ ); mostrando valores máximos a las 08:00h ( $P=0,001$  vs.

6

~

16:00 y 20:00h;  $P=0,01$  vs. 04:00h;  $P=0,05$  vs.00:00h) y a las 12:00h ( $P=0,001$  vs. 16:00h;  $P=0,01$  vs. 20:00) y mínimos a las 16:00h ( $P=0,001$  vs. 08:00 y 12:00h). En los animales tratados con cadmio, la concentración de 5-HT no presenta variaciones significativas a lo largo del día (Fig. 5). La exposición al metal no conlleva variaciones significativas de los niveles medios de 5HT a lo largo del día (Fig. 5), aunque el contenido de esta indolamina aumenta a las 16:00h ( $P=0,01$  vs. el grupo control).

En la Fig. 6 se observa que la concentración del contenido de ác. 5-HIA en CPF en rata adulta varía forma circadiana (Fig. 6;  $F=6,94$ ;  $P=0,001$ ); con un pico a primera hora de la fase luminosa, concretamente muestra valores máximos a las 08:00 h ( $P=0,01$  vs. 16:00;  $P=0,05$  vs.20:00h) y a las 12:00 ( $P=0,001$  vs. 16:00h;  $P=0,01$  vs. 04:00 y 20:00h) y mínimos a las 16:00h ( $P=0,001$  vs. 12:00;  $P=0,01$  vs. 08:00h). En los animales expuestos al cadmio la concentración de este metabolito presenta variaciones significativas a lo largo del día (Fig. 6;  $F=7,41$ ;  $P=0,001$ ), con dos picos; uno durante la fase luminosa, a las 16:00h ( $P=0,05$  vs. a las 20:00 y

00:00 h) y otro durante la fase oscura, a las 04:00 h ( $P=0,001$  vs. a las 20:00 y 00:00h;  $P=0,01$  vs. a las 12:00h;  $P=0,05$  vs. a las 08:00h).

Tal y como se muestra en la Fig. 7, el contenido del índice ác. 5-HIA/5-HT en esta región cerebral en animales adultos no varía de forma circadiana (Fig. 7). Tras la exposición al cadmio dicho índice varía de forma significativa a lo largo del día (Fig. 7;  $F=8,90$ ;  $P=0,001$ ), con un pico a las 04:00h ( $P=0,001$  vs. a las 08:00 y 00:00h;  $P=0,05$  vs. a las 12:00, 16:00 y 20:00h), aunque este metal no induce variaciones significativas de los valores medios a lo largo del día de la ratio ác. 5-HIA/5-HT (Fig. 7), aunque dicho índice aumenta a las

04:00h (P=0,001 vs. el grupo control).

7

✓

## DISCUSION

Los datos obtenidos en el presente trabajo muestran los ritmos circadianos del contenido de las aminas biógenas y del metabolismo de dopamina y serotonina en CPF en rata macho adulta, así como los efectos de la exposición subcrónica al cadmio sobre dichos ritmos en estos animales.

Hasta la actualidad, hay muy pocos datos acerca de las alteraciones que puede inducir el cadmio sobre los ritmos circadianos biológicos. Concretamente, sólo hay un trabajo en el que se observan cambios en el ciclo sueño-vigilia tras la administración de una sola dosis de cadmio en rata Wistar [22]. No obstante, según trabajos previos de nuestro Laboratorio, la administración subcrónica de cadmio en el agua de bebida altera el patrón diario de las aminas biógenas en distintas regiones cerebrales, como el hipotálamo anterior, mediobasal y posterior, y la eminencia media [2, 11, 23].

Según los datos obtenidos, en la CPF el contenido de norepinefrina, dopamina y serotonina, y el metabolismo de estas dos últimas aminas biógenas, siguen unos ritmos circadianos específicos bien definidos, en rata macho adulta. Así, la concentración de NE muestra en CPF un patrón diario similar al observado en el hipotálamo mediobasal en estudios anteriores de nuestro grupo de investigación [11], siendo diferente al encontrado en otras regiones hipotalámicas [11], y en la eminencia media [23]. Estas diferencias podrían ser debidas a distintas causas como son: la cepa distinta de los animales utilizados en estos ensayos (Wistar en el presente trabajo y Sprague-Dawley en los estudios anteriores), y la estación del año en la que se realizaron los estudios (otoño en este trabajo y primavera en los anteriores). El ritmo circadiano que sigue el contenido de DA en la CPF presenta valores más elevados entre las 16:00 y las 20:00, y a las 08:00h. Es de destacar que en otras regiones cerebrales como son el

8

✓

hipotálamo anterior y el hipotálamo posterior esta amina no presenta variaciones circadianas [2, 11]. Este hecho sugiere una posible intervención de la CPF en el control de los biorritmos diarios a otros niveles como es el estatus emocional [24].

La concentración de 5-HT presenta valores más elevados al comienzo de la fase luminosa del día, y muestra un patrón diario muy similar al de su principal metabolito, el ácido 5-HIA. De hecho, a nivel estadístico hay una correlación entre los valores de esta indolamina y su metabolito ( $F= 44,52$ ;  $P=0,001$ ). Sin embargo, tras la administración al cadmio, no se observa esta correlación entre ambos biorritmos.

Tras la administración del cadmio, el ritmo circadiano de NE en la CPF está muy alterado, llegando a ser prácticamente simétrico al observado en los animales del grupo control. Es de destacar que en los animales tratados con la misma dosis de cadmio que la utilizada en este trabajo, la NE sigue un ritmo similar en el hipotálamo posterior y en la CPF [23]. Esto puede ser explicado teniendo en cuenta las proyecciones neuronales existentes entre estas regiones cerebrales [27]. Por otro lado, estos cambios en el ritmo de esta catecolamina en el hipotálamo posterior podría estar relacionado con disfunciones en la ingesta de alimento [27].

La administración oral de 100 ppm de cadmio durante 60 días, no modificaba la concentración de DA y de DOPAC, así como el índice de metabolismo DOPAC/DA en todas las regiones cerebrales estudiadas (inclusive el cortex frontal) excepto en el túbulo olfativo y el núcleo accumbens [7]. Sin embargo, en el presente trabajo, tras la administración de una dosis inferior de cadmio (25 ppm de CdCl<sub>2</sub>) y una duración menor del tratamiento (30 días), encontramos un aumento en los niveles medios a lo largo del día de DA y un descenso del índice medio de DOPAC/DA a lo largo del día. Ante estos hechos, se pone de manifiesto la necesidad de evaluar

9

~

la neurotoxicidad desde la perspectiva de la cronobiología en un intento de conseguir una mayor aproximación a lo que acontece en la realidad.

Sorprendentemente, en los animales expuestos al cadmio, aparece un g

ran pico de DA a las 04:00h, mientras que este ritmo circadiano no varía prácticamente en el resto del día, respecto a los animales del grupo control. Este gran pico que aparece en la fase oscura no fue observado en el hipotálamo [11]. Lo que podría ser debido a que en este trabajo se han utilizado ratas Wistar y en aquel se utilizaron ratas Sprague-Dawley. Asimismo, ambos trabajos han sido realizados en diferentes estaciones del año, lo que podría ocasionar las diferencias encontradas.

La administración del cadmio en rata macho adulta induce importantes variaciones en el patrón diario de la 5-HT y del ácido 5-HIA en CPF. No obstante, la correlación positiva que existe entre ambos ritmos en los animales del grupo control, persiste tras la administración del xenobiótico ( $F=8,61$ ;  $P=0,01$ ), ya que el biorritmo de ambos (la indolamina y su metabolito) son modificados de forma semejante por el metal.

Según los datos obtenidos, la exposición subcrónica al cadmio conlleva alteraciones importantes en el patrón diario del contenido de las aminas biógenas y del metabolismo de DA y 5-HT en CPF. Estos resultados confirman la neurotoxicidad de este metal pesado a nivel de estos neurotransmisores, demostrada ampliamente en trabajos de otros autores [8, 25], así como en trabajos previos de nuestro grupo [11, 26].

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por la Xunta de Galicia (PGIDT99PXY38301B) y por la Universidad de Vigo (TL1-1999 y TL1-2001).

10

✓

#### BIBLIOGRAFIA

1. Clark DE, Nation JC, Bourgeois AJ (1985) The regional distribution of cadmium in the brains of orally exposed adult rats. *Neurotoxicology* 6:109-114.
2. Marquez N (1999) Posibles alteraciones inducidas por cadmio en los ritmos circadianos de los sistemas neuroendocrinológico e inmunológico en rata macho adulta. Tesis Doctoral Universidad de Vigo.
3. Lafuente A, Márquez N, Pazo D, Esquifino AI (2001) Cadmium effects on hypothalamic-pituitary-testicular axis in male rats. *Exp Biol Med* 226: 605-11.
4. Hrdina PD, Peters DA, Singhal RL (1976) Effects of chronic exposure to cadmium, lead and

mercury of brain biogenic amines in the rat. *Res Com Chem Pathol Pharmacol* 15: 483-493.

5. Arito H, Sudo A, Suzuki Y (1981) Aggressive behavior of the rat induced by repeated administration of cadmium. *Toxicol Lett* 7: 457-461.

6. Chandra SV, Kalia K, Hussain T (1985) Biogenic amines and some metals in brain of cadmium-exposed diabetic rats. *J Appl Toxicol* 5: 378-381.

7. Nation JK, Frye GD, Von Stulz J, Bratton GR (1989) Effects of combined lead and cadmium exposure changes in schedule-controlled responding and in dopamine, serotonin and their metabolites. *Behavioral Neuroscience* 1108-1114.

8. Das KP, Das PC, Dasgupta S, Dey CD (1993) Serotonergic-cholinergic neurotransmitters' function in brain during cadmium exposure in protein restricted rat. *Biol. Trace. Elem. Res.* 36: 119-27.

9. Andersson H, Petersson-Grave K, Lindqvist E, Luthman J, Oskarsson A, Olson L (1997) Low-level cadmium exposure of lactating rats causes alterations in brain serotonin levels in the offspring. *Neurotoxicology and Teratology* 19: 105-115.

10. Antonio MT, Corpas I, Leret ML (1999) Neurochemical changes in newborn rats' brain after gestational cadmium and lead exposure. *Toxicol Lett* 104: 1-9.

11. Lafuente A., Gonzalez-Carracedo A, Romero A, Esquifino AI (2003) Effect of cadmium on 24-h variations in hypothalamic dopamine and serotonin metabolism in adult male rats. *Exp Brain Res* 149: 200-6.

12. Karreman M, Moghaddam B (1996) The prefrontal cortex regulates the basal release of dopamine in the limbic striatum: an effect mediated by ventral tegmental area. *J Neurochem* 66: 589-98.

11

✓

13. Charlety PJ, Grenhoff J, Chergui K, De la Chapelle B, Buda M, Svensson TH, Chouvet G (1991) Burst firing of mesencephalic dopamine neurons is inhibited by somatodendritic application of kynurenate. *Acta Physiol Scand* 142: 105-12.

14. Kish SJ (1988) Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with Parkinson's disease. *NEJM* 318: 876-80.

15. Grace AA (1991) Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: A hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* 41: 1-24.

16. Willner P (1985) Depression. A psychobiological synthesis. Nueva York, John Wiley and sons.

17. Andersen P (1999) Neurobiology. A spine to remember. *Nature* 399: 19-21.
  18. White FJ (1996) Synaptic regulation of mesocorticolimbic dopamine neurons. *Annu Rev Neurosci* 19: 405-436.
  19. Deutch AY, Cameron DS (1992) Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience* 46: 49-56.
  20. Cohen PR, Perrault CR (1979) Elements of a plan-based theory of speech acts. *Cognitive Science* 3: 117-212.
  21. Selgas L, Pazo D, Arce A, Esquifino AI, Cardinali DP (1998) Circadian rhythms in adenohipophysial hormone levels and hypothalamic monoamine turnover in mycobacterial adjuvant-injected rats. *Biol Signal Recept* 7: 15-24.
  22. Vataev SI, Malgina NA, Oganesian GA. (1994) The effect of cadmium on the structure of the circadian cycle of waking-sleep and on the EEG in the wistar rats. *Zh Evol Biokhim Fiziol* 30: 408-419.
  23. Gonzalez-Carracedo A (2002) Efecto del cadmio en los ritmos circadianos de las aminas biógenas y hormonas hipofisarias. Tesis de licenciatura Universidad de Vigo.
  24. Nakayama K (2002) Diurnal rhythm in extracellular levels of 5-hydroxyindoleacetic acid in the medial prefrontal cortex of freely moving rats: an in vivo microdialysis study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26: 1383-8.
  25. Minami A, Takeda A, Nishibaba D, Takefuta S, Oku N (2001) Cadmium toxicity in synaptic neurotransmission in the brain. *Brain Res* 894: 336-9.
  26. Lafuente A, Esquifino AI (1999) Cadmium effects on hypothalamic activity and pituitary hormone secretion in the male. *Toxicol Letters* 110: 209-218.
  27. Kelley AE (2004) Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 765-76.
- Pies de Figura:

12

~

Figuras 1-7.-Variaciones diarias del contenido de NE, DA, DOPAC, tasa de metabolismo de la DA (expresada como la ratio DOPAC/DA), 5-HT, ác. 5-HIA y la tasa de metabolismo de la 5HT (expresada como la ratio ác. 5-HIA/5-HT) en corteza prefrontal en ratas adultas expuestas a 25 ppm de CdCl<sub>2</sub> (n = 10 animales por grupo). Los datos se expresan como la media ± E.E.M.

180

90

0

Fig. 1

Co ntro l

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 00.00H 04.00H 08.00H

Hora del día

Fig. 2

200

100

0

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 0.00H 04.00H 08.00H

Ho ra de l d í a

Co ntro l

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

Fig. 3

40

20

0

Co ntro l

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 0.00H 04.00H 08.00H

Hora del día

Fig. 4

13

~

1,8

0,9

0

420

210

0

150

100

50

0

0,6

0,3

0

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 0.00H 04.00H 08.00H

Ho ra de l d í a

Control

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

Fig. 5

Co ntro l

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 0.00H 04.00H 08.00H

Hora del día

Fig. 6

Co ntro l

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H

Ho ra de l d í a

0.00H 04.00H 08.00H

Fig. 7

Control

25 ppm CdCl<sub>2</sub>

08.00H 12.00H 16.00H 20.00H 0.00H 04.00H 08.00H

Hora del día

14

~

15

~