



Pez cebra (Danio rerio) y su aplicación como modelo de investigación para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad TDAH

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá, Abril 2022



Pez cebra (Danio rerio) y su aplicación como modelo de investigación para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad TDAH

Karoll Astrid Silvestre Lagos

Asesora interna

Ruth Mélida Sánchez Mora, PhD. en Biotecnología

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Bogotá, Abril 2022



Pez cebra (Danio rerio) y su aplicación como modelo de investigación para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad TDAH

Aprobada _____

Jurados _____

Asesora interna

Ruth Mélida Sánchez Mora, PhD. en Biotecnología

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá, Abril 2022

DEDICATORIA

Primeramente, quiero dedicarle este trabajo a Dios, ya que en él he encontrado la fuerza para no rendirme, la calma para no caer en desesperación y el amor para luchar por lo que considero es mi vocación. Fue Dios quien me obsequió a quienes también me gustaría agradecer, a mi familia, aquella que se frustra, preocupa, alegra y se enorgullece conmigo, con mis asuntos, mis estudios, pero, sobre todo, con mis logros. Quisiera destacar la labor de mi madre Nelly Lagos, mujer incansable que no desfallecía por el placer de ver a sus hijos salir adelante. No importando cuán arduo y desgastante resultará su trabajo, nunca faltó una palabra de aliento, un obsequio que endulzara mi día, un consejo académico o una crítica constructiva que supiera enfocarme en mis metas, pero, más importante que todo lo anterior mencionado, nunca faltó en ella la más bella de las complicidades. De igual manera, es menester agradecer a mi padre Harol, aquel hombre que, sin importar las adversidades, ha estado siempre para mis hermanos y para mí. Nunca he hallado en él ausencia de escucha, afecto, comprensión, cariño y, más importante, de amor; para él, mi eterno agradecimiento e incondicional respeto y aprecio.

También dedico este trabajo a mis hermanos, ya que agradezco inmensamente la labor que, aún sin ellos saberlo, ha servido de motor para querer ser un ejemplo digno de las expectativas de mis padres. A mi hermano Harold, gracias por obsequiarme una sonrisa y un chascarrillo cuando más lo necesitaba. A mi hermano Gian Carlo, gracias por escuchar, comprender e intentar solucionar muchos de los problemas que en su momento llegaron a aquejarme. Gracias a los dos por ser mis eternos compañeros de juego.

También dedico este trabajo a mi asesora de tesis, la profesora Ruth Sánchez, por estar en este proceso que hoy culmina, por brindarme sus consejos y sabiduría, por ser la docente respetuosa, que me enseñó a ser una profesional íntegra y responsable.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a la universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por haberme permitido crecer y aprender como persona, quiero agradecer a mi asesora Ruth Sánchez, por acompañarme en este camino, por guiarme en cada fase de la elaboración de este proyecto, por enseñarme en base a sus conocimientos con profesionalismo. Además agradezco a mi mamá y mi papá por ser mi pilar y mi gran apoyo, además a mis hermanos por creer en mí y no dejarme sola. Por último agradezco a mis amigas Valeri y María Fernanda, por acompañarme en este proceso, por los momentos vividos y las gratas experiencias.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	9
1. Antecedentes	10
2. Marco teórico	13
2.1 Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH)	13
2.1.1 Diagnóstico del TDAH	14
2.1.2 Tratamiento	14
2.1.3 Etiología del TDAH	15
2.2 Pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	23
2.2.1 Características neuroanatómicas del pez cebra	24
2.2.2 Desarrollo del SNC en el pez cebra	24
2.2.3 Etapas de desarrollo del pez cebra	26
2.2.4 Principales Ventajas y limitaciones del modelo del pez cebra	26
3. Aproximación al diseño metodológico	27
3.1 Tipo de investigación	27
3.2 Alcance de la investigación	27
3.3 Procedimiento, técnica o método	27
4. Resultados	28
4.1 Genes ortólogos del pez cebra e hipótesis del TDAH	29
4.1.1 Hipótesis dopaminérgica	32
4.1.2 Hipótesis noradrenérgica	33
4.1.3 Hipótesis serotoninérgica	33
4.2 Ensayos para determinar fenotipos del TDAH en el Pez cebra	34
4.2.1 Ensayo de locomoción	34
4.2.2 Ensayo de campo abierto	35
4.2.3 Tarea de tiempo de reacción en serie de 5 repeticiones (5-C5RTT)	36
4.3 Modelado del TDAH en el Pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	37
4.3.1 Evaluación de la acción fármacos en el Pez cebra para explicar fenotipos del TDAH	37
4.3.2 Evaluación de isoflavonas en el Pez cebra para explicar para tratar la hiperactividad en el TDAH	40
5. Discusión	42

6. Conclusiones	45
Referencias bibliográficas	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Desarrollo del cerebro del pez cebra.....	25
Figura 2: Etapas de desarrollo del Pez cebra.....	26
Figura 3: Proteínas implicadas en el TDAH asociadas a los sistemas monoaminérgicos....	32
Figura 4: Prueba de campo abierto	36
Figura 5: Instrumento utilizado en el ensayo de 5-C5RTT.....	37
Figura 6: Velocidad en el Pez cebra mutante tratado con isoflavonas.....	41
Figura 7: Expresión de genes implicados en la síntesis dopaminérgica después del tratamiento con aurículasina	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Genes implicados en el TDAH	17
Tabla 2: Tabla de genes del TDAH subclínico y genes ortólogos en el pez cebra (Danio rerio)	31
Tabla 3: Influencia de fármacos agonistas y antagonistas de receptores de DA en el comportamiento hiperactivo del Pez cebra.....	39



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Resumen

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), es un trastorno del neurodesarrollo de inicio en la niñez, el cual afecta alrededor del 5% de los niños en todo el mundo, además presenta tres síntomas que son hiperactividad, impulsividad y déficit de atención; en cuanto a sus causas se han identificado factores neurobiológicos, ambientales y genéticos. El objetivo de este trabajo fue mostrar el Pez cebra como modelo de investigación para el estudio de TDAH, ya que este modelo biológico presenta genes ortólogos con el humano de importancia clínica en el TDAH, estos genes se clasifican según las tres hipótesis relacionadas con esta patología, que son la hipótesis dopaminérgica, serotoninérgica y noradrenérgica. Ahora bien las mutaciones en estos genes generan en el Pez cebra comportamientos similares a los vistos en el humano, y esto se determina por medio de distintos ensayos, como lo son el ensayo de locomoción, ensayo de campo abierto y ensayo de Tarea de tiempo de reacción en serie de 5 repeticiones (5-C5RTT), que junto a herramientas genéticas permitieron determinar la acción de fármacos agonistas y antagonistas de receptores D1 y D2 en la hiperactividad del Pez morfante para el gen *lphn3.1*, cuya mutación permite evaluar el comportamiento del Pez cebra tras la sensibilización de sus receptores. Por último el metabolito aurículasina, una isoflavona extraída de las raíces de *Flemingia filiphinensis*, reflejó un buen índice terapéutico al aumentar los niveles de DA y así lograr disminuir la hiperactividad ocasionada por la mutación del gen *Period1b* en el Pez cebra.

Palabras clave: TDAH, Pez cebra, Hipótesis dopaminérgica, serotoninérgica y noradrenérgica, dopamina, ensayos.

Karoll Astrid Silvestre Lagos

Ruth Mélida Sánchez Mora

1 abril 2022

El Pez cebra (*Danio rerio*) y su aplicación como modelo de investigación para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad TDAH

Introducción

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) se presenta principalmente en niños generando problemas en diversos entornos del desarrollo y es por esta razón que se hace necesario ampliar el conocimiento que existe acerca de las causas genéticas del TDAH por medio de modelos novedosos de investigación como lo es el pez cebra (*Danio rerio*), para identificar así la acción que tienen las mutaciones genéticas en el desarrollo del trastorno aumentando el conocimiento que científicos, médicos, padres y docentes tienen acerca del trastorno y cómo este afecta el desarrollo normal del niño.

Cabe destacar que el TDAH es una afección psiquiátrica neurológica, la cual presenta tres síntomas característicos, siendo estos falta de atención, hiperactividad e impulsividad, principalmente se presenta en la edad escolar, afectando el comportamiento y el rendimiento en la escuela, en el hogar y en la sociedad, además se ha descubierto que puede pasar a la adolescencia y la edad adulta¹, es decir que la falta de un tratamiento adecuado afecta la calidad de vida de la persona en cada una de las etapas de su crecimiento.

El pez cebra (*Danio rerio*) presenta diversas ventajas frente a otros modelos como por ejemplo el ratón, esto es porque el pez cebra tiene un repertorio de comportamientos similares a los presentados en el TDAH, cuyos síntomas son provocados cuando hay una alteración en el transporte adecuado de neurotransmisores que regulan diferentes funciones del sistema nervioso central, estas alteraciones pueden ser producidas por mutaciones de genes implicados en la síntesis, el transporte y la regulación de neurotransmisores².

El impacto de este trabajo va dado a la posibilidad de estudiar el TDAH en un modelo novedoso, en el cual sus embriones se desarrollan externamente y los huevos son transparentes lo cual facilita los estudios de desarrollo, además en este se encuentran genes ortólogos que se han relacionado con los genes implicados en el TDAH, sus vías neuronales están muy conservadas, incluidos el sistema del neurotransmisor dopamina, es así como por medio de este modelo se puede llegar a una explicación acerca de la genética del TDAH³.

El objetivo de esta revisión fue analizar el uso del modelo del pez cebra (*Danio rerio*) en el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), con el fin de determinar los genes ortólogos en *Danio rerio* que están relacionados con esta patología, describir ensayos utilizados en la evaluación de los fenotipos que subyacen al TDAH en el pez cebra y analizar las diferentes aplicaciones del pez cebra en el análisis de los fenotipos del TDAH. Todos estos estudios brindan las bases para futuras investigaciones acerca de los genes implicados en el trastorno y cómo estos se pueden emplear como blancos terapéuticos en el tratamiento del TDAH.

Objetivos

Objetivo general

- Analizar el uso del modelo del pez cebra (*Danio rerio*) en el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH).

Objetivos específicos

- Determinar los genes ortólogos en el Pez cebra (*Danio rerio*) que están relacionados con el TDAH.
- Describir ensayos utilizados en la evaluación de los fenotipos que subyacen al TDAH en el pez cebra.
- Analizar las diferentes aplicaciones del pez cebra en el análisis de los fenotipos del TDAH

1. Antecedentes

Los modelos animales han sido utilizados con el fin de evaluar la patogenicidad de diversas enfermedades humanas, destacando los trastornos psiquiátricos como el TDAH, para el cual se han identificado tres modelos, el Ratón (*Mus musculus*), la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y Pez cebra (*Danio rerio*). La importancia de estos radica en su similitud comportamental con el humano cuando presentan alteraciones en la expresión de ciertos genes ortólogos⁴.

El gen LPHN3 se ha asociado con el TDAH y se sabe que está implicado en el desarrollo de neuronas dopaminérgicas⁵, en el modelo del ratón se ha determinado que la mutación en este gen genera un fenotipo de hiperactividad. Tal y como se demuestra en el estudio realizado en el 2019 por Regan S, et al⁶, estos crearon una mutación para LPHN3 en ratas Sprague-Dawley por medio de CRISPR/cas9 eliminando el exón 3 del gen, como consecuencia las ratas mostraron hiperactividad y un aumento del sobresalto acústico, significando esto una asociación con el TDAH.

Por otro lado, para evaluar la ansiedad y la hiperactividad en el modelo del ratón Mortimer N, et al, en el 2019, utilizaron la prueba de campo abierto (OF), esta consiste en colocar un ratón en la esquina de una caja registrando sus movimientos por medio del software VideoMot2, el cual permite determinar la distancia recorrida para evaluar la hiperactividad y el tiempo que cada ratón pasó en el área central como una medida de ansiedad, los ratones knockout (*Adgrl3* - / -), carecen del gen, mostraron hiperactividad⁷.

Otro modelo conocido para el TDAH es la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, para la cual van der Voet M, et al en el año 2016 describieron la acción del gen *DAT1*, cuyas funciones se enfocan en la señalización dopaminérgica; La mutación en el gen generó un fenotipo hiperactivo en la mosca, esto lo determinaron por medio del software *Drosophila Activity Monitor (DAM)*, siendo este un sistema que detecta el movimiento por medio de rayos de luz infrarroja, además se observó que el tratamiento con el estimulante MPH (metilfenidato) disminuye los síntomas⁸.

El pez cebra (*Danio rerio*), es otro modelo que permite el análisis de procesos del neurodesarrollo, ya que sus embriones se desarrollan ex útero, y su cerebro se desarrolla dentro de las primeras 96 hpf (horas posterior a la fertilización), presentando un alto grado de conservación de las estructuras cerebrales, tipos de neurotransmisores y conectividad neuronal; además a las 120 hpf refleja comportamientos que son de interés para el estudio de trastornos como el TDAH, recientemente se han realizado estudios para evaluar psicofármacos, ya que estos generan efectos en el comportamiento similares a los presentados en el humano tanto en larvas como en el pez cebra adulto⁹.

Además el pez cebra (*Danio rerio*), cuenta con herramientas moleculares¹⁰ como lo es CRISPR/cas9, por medio de la cual Dark C, et al en el 2020 generaron un modelo heterocigoto (*chmp7 +/-*) para el gen *CHMP7*, implicado en la clasificación endosomal y la formación de la envoltura nuclear, implicado esto en procesos del neurodesarrollo, y cuya mutación en el pez generó hiperactividad, este heterocigoto implica que uno de los cromosomas presenta un polimorfismo de un solo nucleótido SNP (rs2294123), en el cual hay un cambio de una guanina por una timina que genera este fenotipo¹¹.

El TDAH es un trastorno del neurodesarrollo, cuya explicación genética nace a partir de estudios familiares y de gemelos, es así como se ha estimado que la heredabilidad del TDAH es del 75 al 90%, e incluso se ha llegado a la conclusión de que la estructura cerebral y la conectividad neuronal están influenciadas por factores genéticos, destacando que en el TDAH estas variantes genéticas están implicadas principalmente en la transmisión dopaminérgica, noradrenérgica y serotoninérgica¹², es decir que este es un trastorno poligénico, dado por la interacción de más de un gen afectado¹³.

Es por esto que el factor genético ha adquirido importancia y por medio de estudios poblacionales se han determinado las mutaciones de variedad de genes, relacionándolas con el TDAH. En Colombia en la región del caribe Puentes-Rozo P, et al en el año 2019 identificaron SNPs para los genes *ADGRL3* (*LPHN3*), *SNAP25*,

FGF1 , DRD4 y SLC6A2¹⁴, además se han asociado SNPs en genes que codifican para el transportador de serotonina 5-HTT y la enzima MAOA¹⁵.

2. Marco teórico

2.1 Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH)

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es un trastorno neuropsiquiátrico de la infancia y se ha encontrado que afecta alrededor del 5% de niños en la edad escolar en todo el mundo, además de un 30 a un 50% de los casos avanzan a la edad adulta, también se informa con más frecuencia en hombres que en mujeres en una proporción de 4:1 en hombres y 9:1 en mujeres. Como se mencionó anteriormente, este trastorno presenta tres síntomas característicos, siendo estos déficit de atención, hiperactividad e impulsividad¹⁶.

En el 95% de los casos la edad de aparición de estos síntomas se estima entre los 4 y 12 años de edad, afectando diversos ámbitos de la vida del niño y del adulto. Se destacan el área familiar, social, académica, en los niños y laboral en los adultos¹⁷, así que basados en la sintomatología en el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, quinta edición (DSM-5) se ha determinado que existen tres subtipos clínicos: Predominantemente desatento (TDAH / I), predominantemente hiperactivo/impulsivo (TDAH / HI) y combinado (TDAH / C)¹⁸.

Aunque la razón por la que este trastorno se presenta con más frecuencia en hombres que en mujeres es desconocida, se ha determinado que las niñas son más propensas a presentar el subtipo TDAH / I, en el que los síntomas de hiperactividad no son notorios y por esto el trastorno pasa desapercibido, a diferencia de los niños que tienden a presentar con más frecuencia los subtipos TDAH / HI y TDAH / C, además en la etapa adulta disminuye la hiperactividad e impulsividad y aumenta el déficit de atención, haciéndose más evidente el trastorno en las mujeres¹⁹.

El TDAH usualmente se presenta comórbido con otros trastornos psiquiátricos como lo son el trastorno de conducta, el trastorno de ansiedad, la depresión, y el trastorno por uso de sustancias²⁰, a largo plazo genera problemas emocionales y sociales, por ejemplo en niños afecta la capacidad de compartir, de tomar turnos e incluso de identificar problemas y generar soluciones, así que los niños tienden a sufrir de acoso escolar. Así mismo cuando este avanza a la edad adulta aumenta la probabilidad del suicidio, el encarcelamiento y los conflictos laborales y familiares²¹.

2.1.1 Diagnóstico del TDAH

El diagnóstico del TDAH es realizado por un médico autorizado el cual practica una serie de entrevistas a los padres, docentes y al paciente. Según el DSM-5 para el diagnóstico se requiere la presencia de síntomas de hiperactividad/impulsividad y déficit de atención, dependiendo del subtipo y además estos síntomas deben ocurrir en diferentes entornos, deben afectar la calidad de vida, presentarse en una edad temprana o media y ningún otro trastorno debe explicar mejor la sintomatología, además se debe tener en cuenta que la hiperactividad disminuye con la edad²².

2.1.2 Tratamiento

Para el tratamiento del TDAH se utilizan medicamentos estimulantes como: El metilfenidato y la anfetamina o no estimulantes como: La atomoxetina, guanfacina y clonidina. En cuanto a su acción el metilfenidato bloquea la recaptación de dopamina y noradrenalina y la atomoxetina solo de la noradrenalina, aumentando así los niveles de estos neurotransmisores en la sinapsis, por el contrario la clonidina y guanfacina estimulan los receptores alfa 2, inhibiendo la liberación de noradrenalina y atenuando la respuesta de estrés simpático²³.

Sin embargo, además del tratamiento farmacológico se cuenta con otra serie de tratamientos que no involucran fármacos como: Terapias conductuales y cognitivo-conductuales, dietas y ejercicios, que junto a la terapia farmacológica favorecen el

tratamiento, lo ideal es que se aplique un tratamiento multimodal e integral, en el que se involucren los fármacos, las terapias psicológicas y los hábitos del niño junto con la compañía del médico, los padres y los docentes²⁴.

2.1.3 Etiología del TDAH

La etiología del TDAH es compleja, ya que al surgimiento de la enfermedad se le atribuye la interacción de variedad de factores genéticos, ambientales y neurobiológicos, que, si bien individualmente no generen gran impacto, en grupo representan un riesgo significativo para el desarrollo del trastorno, de hecho, se cree que los factores genéticos tienen gran impacto, ya que subyacen a las alteraciones neurobiológicas y es susceptible a los cambios ambientales que experimenta el individuo²⁵.

2.1.3.1 Causas Ambientales

Los factores ambientales que promueven al desarrollo del trastorno afectan etapas del desarrollo como la concepción y los periodos prenatal, perinatal y posnatal, además se sabe que muchos de estos interactúan con factores genéticos para así dar origen a la patología. Un ejemplo de estos es la exposición materna a drogas antes o durante la concepción o el tipo de crianza que recibe el niño, sin embargo también existen factores ambientales como el bajo peso al nacer o la prematuridad, los cuales no influyen directamente en la expresión genética²⁶.

Cabe destacar que durante la concepción un factor ambiental influyente es el alcohol, ya que las crías de ratas expuestas a alcohol durante 8 semanas antes del apareamiento reflejaron síntomas de hiperactividad, déficit de atención e impulsividad e incluso alteraciones en el transporte de dopamina, además se ha determinado que en el periodo posnatal y durante el desarrollo del niño, la exposición a metales pesados como el manganeso generan deterioro cognitivo, déficits de pensamientos y se ha relacionado con el desarrollo del TDAH / HI²⁷.

2.1.3.2 Causas Neurobiológicas

Las causas neurobiológicas del TDAH están relacionadas con los cambios cerebrales estructurales, funcionales y moleculares que se generan en su mayoría por mutaciones genéticas, así que por medio de estudios de imágenes se han encontrado volúmenes más pequeños en estructuras cerebrales como el accumbens, caudado, putamen, amígdala, hipocampo y en general un volumen intracraneal reducido, estos cambios afectan la atención y la inhibición de la respuesta²⁸, siendo esta la capacidad de suprimir respuestas inapropiadas²⁹.

El putamen y el caudado hacen parte de una estructura denominada el cuerpo estriado, cuya modulación está dada principalmente por la dopamina, la cual se encuentra disminuida en el TDAH en la región fronto-estriatal, siendo esta la que procesa la información sensoriomotora recibida por el cuerpo estriado y la regresa a la corteza frontal y prefrontal, regulando así la atención y la inhibición de la respuesta³⁰.

2.1.3.3 Causas genéticas

El TDAH tiende a ser hereditario y esto se ha respaldado con numerosos estudios basados en la familia, por medio de estudios de asociación genética molecular se determinó que los familiares directos de un paciente con TDAH tienen un riesgo de 5 a 10 veces mayor de presentar también el trastorno, así es que se ha descrito que en este factor genético participan una serie de genes, los cuales se han clasificado según la función que cumplen dentro del sistema nervioso central (SNC)³¹.

Por lo cual se destacan el sistema dopaminérgico, donde se han encontrado genes como DRD2, DRD3, DRD4 y DRD5, DAT, el sistema noradrenérgico con SLC6A2, ADRA2A, 2C y 1C, el sistema serotoninérgico con HTR2A, HTR1B, 5-HTT, SLC6A4 y el sistema gabaminérgico con GABRB3, no obstante también hay genes que codifican para enzimas que participan en el SNC, como DBH, COMT y MAOA³². Cada uno de estos genes se ha relacionado de algún modo con el desarrollo de la patología tal y como se observa en la tabla 1.

Tabla 1: Genes implicados en el TDAH

Genes	Nombre	Función	Mutaciones asociadas	Implicación en el TDAH	Referencias
VÍA DOPAMINÉRGICA					
DAT1/S LC6A3	Transportador de dopamina, localizado en 5p15.3 ³³ .	El transportador de dopamina regula la disponibilidad de dopamina (DA), eliminándola y liberándola en la hendidura Sináptica ³⁴ , siendo este un mecanismo de regulación de la dopamina en el cuerpo estriado ³⁵ .	polimorfismo de número variable de repeticiones en tándem (VNTR) de 40 pb ubicado en la región 3'-no traducida (3'-UTR) ³⁴ . Los alelos más comunes son aquellos con 9 y 10 repeticiones (9R y 10R) ³⁵ . VNTR en el intrón 8 ampliamente investigado es la secuencia repetida de 30 pb, alelos más comunes con repeticiones 5 y 6 [5R y 6R] ³⁵ . haplotipo rs2652511, rs2937639 ³⁵ . Holotipo rs27048 (C) / rs429699 (T) ³⁷ .	La mutación en este gen se ha asociado con síntomas de déficit de atención, hiperactividad e impulsividad ³⁶ .	33, 34, 35, 36, 37
DRD1	Receptor de dopamina, 5q34-q35 ³³ .	Es un receptor de dopamina tipo D1, el cual tiene funciones en la señalización para liberación de la dopamina, se encuentra en neuronas postsinápticas, es el subtipo de receptor de dopamina más abundante en el cerebro, su mayor expresión se da en	rs5326 Alelo C o rs4532 y el alelo A de rs265981 ³⁵ .	Los ratones mutantes en este gen, expresan hiperactividad ³⁴ .	33, 34, 35

		el cuerpo estriado y la corteza cerebral ³⁵ .			
DRD2	Receptor de dopamina D2, 11q22-q23 ³³ .	Receptor acoplado a proteína G, el cual inhibe la adenil ciclasa y por lo tanto inhibe la señalización para la liberación de dopamina ³⁴ .	TaqIA (rs1800497) ³⁴ .	Se encuentra en regiones del cerebro relacionadas con el TDAH, como la corteza prefrontal y los ganglios basales, se ha relacionado con impulsividad y adicciones ³⁶ , Expresión reducida de Drd2 en el estriado ventral ³⁸ .	33, 34, 36, 38
DRD3	Receptor de dopamina D3, 3q13.3 ³³ .	Receptor acoplado a proteína G, del tipo D2, esto quiere decir que inhibe el transporte de dopamina. Este receptor es importante en el aprendizaje basado en incentivos ³⁴ .	Variante (Ser96ly) ³⁶ . Ball	Se expresa en el núcleo accumbens y la sustancia negra ³⁴ . Genera hiperactividad motora ³⁶ .	33, 34, 36
DRD4	Receptor de dopamina D4, 11p15.5 ³³ .	Receptor acoplado a proteína G el cual pertenece a la familia de receptores D2 y por lo tanto inhibe la adenilciclasa ³⁴ .	Duplicación de 120 pb (rs4646984) ³⁴ . -521 C / T (rs1800955) ³⁴ . -616 C / G (rs747302) ³⁴ . 12 pb (rs4646983) ³⁴ . -615 A / G (rs936462) ³⁴ .	Se encuentra en la corteza cingulada implicada en la atención e inhibición ³⁴ , el alelo de riesgo afecta la unión al	33, 34, 35, 39

			<p>-376 C / T (rs916455)³⁴.</p> <p>VNTR de 48 pb en el exón 3 del gen (2R, 4R, 7R)³⁴.</p>	<p>receptor y produce una respuesta disminuida a la dopamina, se ha observado una reducción en la orientación de la atención³⁵.</p> <p>Genera una menor sensibilidad a la dopamina³⁹.</p>	
DRD5	Receptor de dopamina D5, 4p16 ³³ .	Receptor acoplado a proteína G, el cual pertenece a la clase D1 de receptores DA y estimula la actividad de la adenil ciclasa ³⁴ .	Una repetición de dinucleótido altamente polimórfica (CA) _n , ubicada al final de la región flanqueante 5', indicando que el alelo de 148 pb, se asoció con el TDAH ³⁴ .	<p>Se expresa en el hipocampo, además, está implicado en la fuerza sináptica en la formación de la memoria del hipocampo³⁴.</p> <p>Falta de atención, variabilidad del tiempo de respuesta³⁸.</p>	33, 34, 38
VÍA SEROTONINÉRGICA					
SCL6A4	Familia de transportadores de solutos 6 (transportador de neurotransmisores),	Codifica una proteína transportadora soluble responsable de la recaptación de 5-HT desde la hendidura sináptica	<p>Repetición de 17 pb en el intrón 2 (STin2) y un SNP en el 3' UTR (rs3813034)³⁴.</p> <p>Alelo funcional de inserción / deleción 5HTTLPR de 44 pb³⁴</p>	La 5-HT se expresa en regiones cerebrales implicadas en la atención, la memoria y	33, 34, 35, 38

	miembro 4, 16q12.2 ³³ .	hacia la neurona presináptica. Es un mecanismo principal para la regulación de la actividad serotoninérgica en el cerebro ³⁴ .	(Polimorfismo HTTLPR) ³⁵ .	5-	las actividades motoras, la mutación R retrasa la aversión y la disfunción motivacional ³⁸ .	
HTR1B	Receptor 1B de 5-hidroxitriptamina (serotonina), acoplado a proteína G, 6q13 ³³ .	Es un receptor acoplado a proteína G que inhibe la formación de AMP cíclico ³⁴ .	G861C (rs6296) ³⁵ .		Se expresa en el núcleo del rafe dorsal involucrado en el ciclo sueño / vigilia. Los ratones "knockout" mostraron aumento de la agresión e impulsividad y mayor respuesta a nuevos estímulos ³⁴ .	33, 34, 35
HTR2A	Receptor de 5-hidroxitriptamina (serotonina) 2A, acoplado a proteína G, 13q14 – q21 ³³ .	Receptor de serotonina ³⁴ .	rs7984966 ⁴⁰ .		Se expresa en gran medida en la corteza, el hipocampo, la amígdala y el núcleo accumbens, su inhibición atenúa los aumentos en la actividad de la dopamina y la hiperlocomoción causados por la administración de	33, 34, 40

				anfetamina ³ 4.	
VÍA NORADRENÉRGICA					
SLC6A 2	Familia de transportadores de solutos 6 (transportador de neurotransmisores), miembro 2, 16q12.2 ³³ .	La proteína NET1 es responsable de la recaptación de noradrenalina desde la hendidura sináptica hacia la neurona presináptica, juega un papel en la recaptación noradrenérgica y dopaminérgica ³⁴ .	Alelo T rs28386840 ⁴¹ . rs28386840, rs2242446, rs40615 y rs15334 ³¹ .	Es atacado por la atomoxetina. Se expresa más en los lóbulos frontales ³⁴ , problemas de atención ya que disminuye la expresión de NET y de noradrenalina ⁴¹ . La metilación en la región promotora del gen, agrava los síntomas de hiperactividad e impulsividad ⁴² .	33, 34, 41, 42
ADRA2 A	Adrenoreceptor alfa 2A, 10q25 ³³ .	Codifica un autorreceptor de norepinefrina cuya activación limita la liberación de norepinefrina ⁴³ .	rs553668 ³⁵ . rs1800544 (C-1291G) ⁴⁴ .	En la corteza prefrontal, influye en las funciones ejecutivas alteradas en el TDAH y el objetivo de medicamentos como guanfacina y clonidina ³⁴ .	33, 34, 43, 44
Enzimas					

COMT	Catecol-O-metiltransferasa, 22q11.21 ³³ .	Es una enzima que cataliza un paso importante en la degradación de DA, NE y epinefrina ³⁴ .	Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, rs4680) en COMT es el SNP más reconocido en el TDAH, lo que lleva a la sustitución de valina (Val) por metionina (Met) en el codón 158 (Val158-Met) de COMT ⁴⁵ .	Aproximadamente el 60% de la degradación de DA en la corteza prefrontal, región implicada en el TDAH, es realizada por COMT, la mutación disminuye de tres a cuatro veces en la actividad enzimática ³⁴ , síntomas de inatención e hiperactividad / impulsividad ⁴⁶ .	33, 34, 45, 46
MAOA	Monoamino oxidasa A, Xp11.4 – p11.3 ³³ .	Codifica una proteína involucrada en el metabolismo de DA, 5-HT y NE en el cerebro ³⁴ .	rs1137070 ³⁵ . 1460 C> T en el exón 14 ³⁶ . Polimorfismo 941 T> G en el exón 8 (rs1799835) ³⁶ .	Ratón knockout MAOA, que muestra un comportamiento agresivo y niveles más altos de neurotransmisores monoaminérgicos ³⁴ .	33, 34, 35, 36
DBH	Dopamina beta-hidroxilasa (dopamina beta-monooxigenasa), 9q34 ³³ .	Cataliza la enzima principal responsable de la conversión de DA en NE ³⁴ .	El polimorfismo de restricción TaqI para DBH (rs2519152), para el alelo A2 no se encontró asociación ³⁴ , sin embargo en otros estudios sí hallaron asociación para el homocigoto del alelo A2 y el TDAH ³⁶ .	Los niveles plasmáticos bajos se han asociado con el trastorno de conducta, que a menudo coexiste con el TDAH, se	33, 34, 36

			Polimorfismos G444A y C1603T ³⁶ .	encuentra en las terminales simpáticas, las glándulas suprarrenales y la corteza prefrontal ³⁴ , hiperactividad en la infancia ³⁶ .	
--	--	--	----------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

Fuente: Construcción propia, Silvestre K, mayo 2021

2.2 El Pez cebra (*Danio rerio*)

El pez cebra, es un teleósteo ciprínido originario del sudeste asiático que es usado como modelo biológico y que permite estudiar trastornos del neurodesarrollo, por medio de manipulación experimental, genética y farmacológica ayuda a identificar biomarcadores clínicamente relevantes y permite el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas, ya que los peces son sensibles al tratamiento con sustancias como los antiepilépticos, antipsicóticos, alcohol, nicotina y anfetaminas⁴⁷.

Cabe destacar que tanto las larvas como el pez cebra adulto son útiles en neurociencia, ya que el pez abarca múltiples comportamientos patológicos y presenta un 70% de homología genética con el humano, además tiene ortólogos que corresponden al 82% de los genes relacionados con neuropatologías; por último se sabe que el pez cebra alcanza la madurez sexual a los 90 días y su longevidad puede durar hasta 5 años, lo que permite una evaluación del desarrollo de las trastornos desde la vida uterina hasta la vida adulta⁴⁸.

No obstante, se ha informado que el linaje de los teleósteos, de donde proviene el pez cebra, presenta una duplicación en su genoma a causa de un proceso evolutivo, sin embargo, y aunque el genoma está duplicado, tiene un alto grado de similitud

genética con el humano en cuanto a expresión y función de los genes⁴⁹ , incluso se sabe que tiene 25 pares de cromosomas⁵⁰ cuya cantidad no es muy diferente a la del humano⁵⁰. Una de las razones por la que el pez cebra es un modelo de preferencia es porque su manipulación genética es más fácil que en roedores⁵¹.

2.2.1 Características neuroanatómicas del pez cebra

Las características neuroanatómicas y morfología celular del SNC del pez cebra presenta similitudes con la de los mamíferos, como es el caso de los neurotransmisores siendo los más destacados, la dopamina, la serotonina, y la noradrenalina, sumado a esto para cada sistema de neurotransmisores se han identificado receptores, transportadores y enzimas, un ejemplo de esto es el gen que codifica para el transportador de dopamina DAT (slc6a4a y slc6a4b), que codifican los transportadores de serotonina, etc⁵².

Además se han identificado estructuras homólogas entre el pez cebra y el humano, un ejemplo de esto es el palio medial del teleósteo, el cual presenta estructuras homólogas con la amígdala de los mamíferos, la cual tienen funciones claves en el procesamiento emocional, sumado a esto, el palio lateral del Pez cebra tiene similitudes funcionales con el hipocampo, y aunque no se ha encontrado una estructura similar a la sustancia negra, el pez cebra tiene la capacidad de producir neuronas dopaminérgicas en el tubérculo posterior, por otra parte se ha determinado que el pez cebra carece de corteza, sin embargo este conserva la capacidad de realizar funciones ejecutivas, como mantener la atención. Esto es importante ya que el cerebro de los vertebrados tiene una estructura y funciones altamente conservadas evolutivamente, lo cual permite relacionar la estructura anatómica básica, las poblaciones celulares y la química del pez cebra con el sistema nervioso humano^{53,54}.

2.2.2 Desarrollo del SNC en el pez cebra

El desarrollo del SNC en el pez cebra comienza al inicio de la gastrulación a las 6 hpf y a partir de las 24 hpf se identifican el prosencéfalo, el mesencéfalo y el rombencéfalo que, como se observa en la figura 1⁵⁴, proporcionan bases para formar estructuras

cerebrales adultas, a saber el prosencéfalo desarrolla el diencéfalo, el cual contiene el hipotálamo, estructura responsable de recibir y procesar información sensorial y dirigir la conducta y el telencéfalo que está compuesto por el palio, el subpalio y el bulbo olfatorio, la función del telencéfalo es la regulación del comportamiento social, la memoria y la emoción.

Así mismo el mesencéfalo es importante para la visión y audición, está compuesto por el tectum y el tegmentum, este último encargado de las respuestas de motivación y recompensa; En el rombencéfalo se originan las neuronas que controlan movimientos del cuerpo, tiene ocho compartimentos a lo largo del tubo neural llamados rombómeros, cada uno da lugar a neuronas que se extienden por medio de la médula espinal a otras partes del cuerpo, finalmente el cerebelo desempeña funciones en el aprendizaje y en control motor⁵⁴.

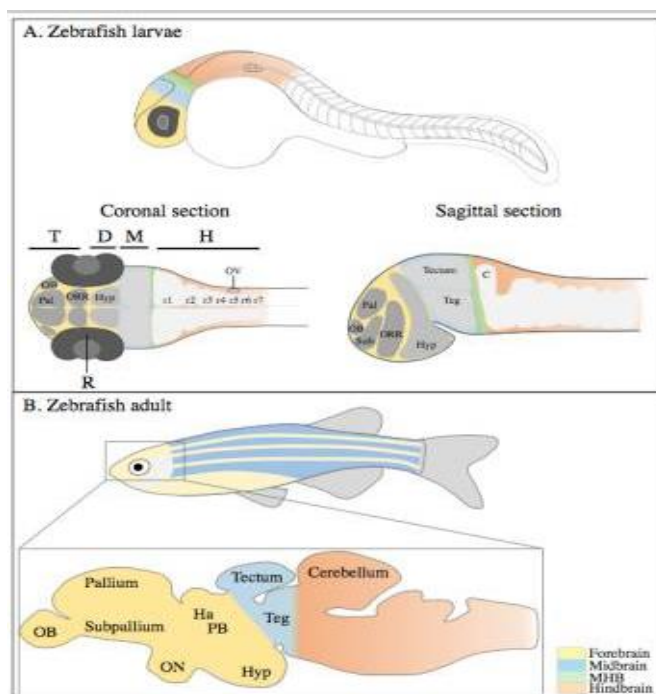


Figura 1: Desarrollo del cerebro del pez cebra. (A) Representación esquemática del cerebro embrionario (30 hpf), que muestra el cerebro anterior/prosencéfalo (en amarillo), el cerebro medio/mesencéfalo (en azul), el MHB (en verde) y el cerebro posterior/ Rombencéfalo (en naranja). El cerebro anterior se subdivide en el telencéfalo (en gris más oscuro) y el diencéfalo (que contiene el hipotálamo, en gris más claro). (B) Representación simplificada del cerebro adulto y dominios principales. C: cerebelo; D: diencéfalo; M: mesencéfalo; MHB: límite mesencéfalo-rombencéfalo; H: rombencéfalo; Ha: habénula; Hip: hipotálamo; BO: bulbo olfatorio; ON: nervio óptico; ORR: región del receso óptico; OV: vesícula ótica; Pal: palio; PB: cuerpo pineal; R: retina; r1–r7: rombómeros 1 a 7; Sub: sub-palio; T: telencéfalo; y Teg: tegmento. Fuente: Int J Mol Sci. Vaz R, et al. marzo 2019

2.2.3 Etapas de desarrollo del pez cebra

El pez cebra tiene cuatro etapas de desarrollo: La primera es la etapa del embrión que va hasta las 72 hpf, posterior a esto el pez pasa a una etapa larvaria que va de los 3 a 30 dpf (Días después de la fertilización), seguido a esto surge el pez juvenil, el cual alcanzan un patrón completo de escamas y pierden por completo el pliegue de la aleta larvaria, esta dura 1 a 3 meses y por último avanza a pez adulto, llamados así por la posibilidad de producir gametos viables y la capacidad reproductiva⁵⁵, tal y como se muestra en la figura 2⁵⁶.

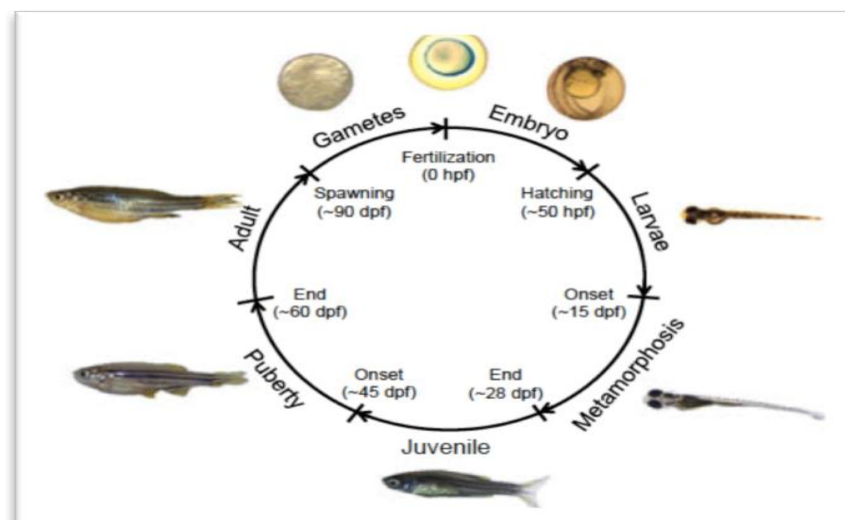


Figura 2: Etapas de desarrollo del Pez cebra. Fuente: Universitat Politècnica de Catalunya Universitat Politècnica de Catalunya. Rodríguez C. septiembre 2016

2.2.4 Principales Ventajas y limitaciones del modelo del pez cebra

Entre las ventajas de utilizar el pez cebra como modelo de investigación se encuentra la transparencia del corion (que permite una fácil observación del desarrollo), el bajo costo de mantenimiento y el rápido desarrollo, además es un modelo importante para evaluar las agresiones químicas, neurotóxicas y genéticas durante el desarrollo neuronal, por otra parte en cuanto a las limitaciones se destaca que algunos comportamientos complejos se desarrollan con el tiempo y se desconoce cómo sería la influencia de los padres en el comportamiento⁵⁷, además de la duplicación genómica presentes en este modelo.

3. Aproximación al diseño metodológico

3.1 Tipo de investigación

El tipo de investigación de este trabajo es cualitativo, ya que se basa en la revisión bibliográfica detallada, acerca del tema de investigación y con base en esta revisión se espera dar explicación a la variable de estudio.

3.2 Alcance de la investigación

Este estudio tiene un alcance exploratorio, ya que se centra en un tema poco estudiado y a partir de la revisión bibliográfica se pretende sentar bases para estudios futuros.

3.3 Procedimiento, técnica o método

Se realizó una revisión bibliográfica en las bases de datos PubMed, Sciencedirect y Springer link, escogiendo artículos científicos y de revisión con una publicación no mayor a 10 años, con el fin de reunir información acerca de la genética del trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), sus síntomas característicos, sus causas y entre estas se indagó acerca de la genética del TDAH, qué vías están relacionadas con este trastorno y posteriormente se buscó información acerca del modelo de investigación *pez cebra*, sus ventajas, su desarrollo y los ensayos utilizados para evaluar su comportamiento, posteriormente se realizó una búsqueda de artículos en los que se haya utilizado el pez cebra como modelo de investigación para el TDAH. Para ellos se realizó una búsqueda de términos como: "Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)", "Zebrafish as research models" y "Zebrafish model in attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)".

Criterios de inclusión

- Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), genética y vías implicadas en el trastorno.
- Pez cebra como modelo de investigación.

- Pez cebra como modelo de investigación para el TDAH, técnicas para evaluar su comportamiento y genes ortólogos.

Criterios de exclusión

- TDAH en presentación con patologías como el trastorno de espectro autista (TEA), tratamientos alternativos para el TDAH.
- Pez cebra modelado en otros trastornos.
- Pez cebra modelado en el TDAH con enfoque en la exposición a contaminantes ambientales.
- Anteriores al 2012.

Revisión sistemática

Identificación	
Número de resúmenes identificados a través de la búsqueda en base de datos	54.264
Artículos después de eliminar los duplicados	49.987
Tamizaje	
Número total de resúmenes tamizados	130
Elegibilidad	
Número total de artículos a texto completo incluidos en la síntesis cualitativa de la RS	110
Número total de artículos seleccionados	92

4. Resultados

El pez cebra, como modelo de investigación, permite evaluar los comportamientos fenotípicos relacionados con el TDAH, en este modelo se han identificado genes ortólogos implicados en la presentación del trastorno que posibilitan el estudio de las hipótesis dopaminérgica, noradrenérgica y serotoninérgica relacionadas con la patología. Por otro lado, la estandarización de diferentes ensayos en la cepa silvestre

y modelos transgénicos ha permitido consolidar el conocimiento en el uso de diferentes compuestos para el tratamiento o la evaluación de los fenotipos de la enfermedad.

4.1 Genes ortólogos del pez cebra e hipótesis del TDAH

En el desarrollo del TDAH se han identificado variedad de genes cuyas mutaciones generan cambios aberrantes en proteínas implicadas en los sistemas centrales dopaminérgico, serotoninérgico y noradrenérgico. Además, como se observa en la tabla 2, algunos de estos genes se han identificado como ortólogos en el pez cebra, debido a esto, y a los diferentes comportamientos bien caracterizados que se pueden evaluar en el pez cebra, el uso de este modelo biológico ha adquirido importancia en investigación, gracias a que variaciones en estos fenotipos brindan información sobre los mecanismos neuronales de la función cerebral normal y patológica⁵⁸.

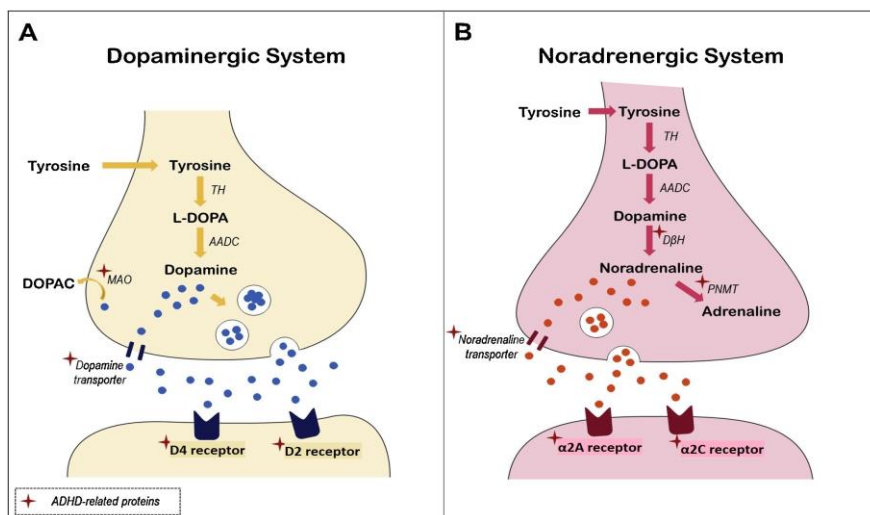
Genes humanos relacionados con el TDAH	Proteínas codificadas	Papel biológico	Genes ortólogos del pez cebra
SISTEMA DOPAMINÉRGICO			
SLC6A3 (C: 5)	Transportador de dopamina	Media la recaptación de dopamina de las sinapsis	slc6a3 (C: 16)
DRD4 (C: 11)	Receptor de dopamina 4	GPCR activado por el neurotransmisor dopamina	drd4a (C: 25) y drd4b (C: 7)
DRD2 (C: 11)	Receptor de dopamina 2	GPCR activado por el neurotransmisor dopamina	drd2a (C: 15) y drd2b (C: 5)
MAO-A (C: X)	Monoamino oxidasa A	Papel clave en la degradación de serotonina, noradrenalina y dopamina	mao (C: 9)
SISTEMA NORADRENÉRGICO			
SLC6A2 (C: 16)	Transportador de noradrenalina	Media la recaptación de noradrenalina de las sinapsis	slc6a2 (C: 7)

ADRA2A (C: 10)	Receptor adrenérgico alfa-2 A	GPCR activado por el neurotransmisor noradrenalina	adra2a (C: 22)
ADRA2C (C: 4)	Receptor adrenérgico alfa-2C	GPCR activado por el neurotransmisor noradrenalina	adra2c (C: 1)
DAP (C: 9)	Dopamina beta-hidroxilasa	Sintetiza la noradrenalina de la dopamina	dap (C: 10)
PNMT (C: 17)	Feniletanolamina N-metiltransferasa	Convierte la noradrenalina en adrenalina	pnmt (C: 12)
Sistema serotoninérgico			
SLC6A4 (C: 17)	Transportador de serotonina	Mediar la recaptación de serotonina siendo dependiente de Na + y Cl	slc6a4a (C: 15) y slc6a4b (C: 5)
HTR1B (C: 6)	Receptor de hidroxitriptamina 1B	GPCR activado por el neurotransmisor serotonina	htr1b (C: 17)
TPH2 (C: 12)	Triptófano hidroxilasa-2	Enzima limitante de la velocidad que sintetiza la serotonina en el cerebro.	tph2 (C: 18)
Otros mecanismos relacionados con el TDAH			
LPHN3 (C: 4)	Receptor de latrofilina 3	GCPR que actúa en la transducción de señales y la adhesión celular.	lphn3.1 (C: 1) y lphn3.2 (sin asignar)
NOS1 (C: 12)	Óxido nítrico sintasa 1	Enzima que sintetiza óxido nítrico que media	nos1 (C: 5)

		varios procesos en el cerebro.	
SNAP25 (C: 20)	Proteína asociada al sinaptosoma 25	Papel clave en el crecimiento axonal, la plasticidad sináptica y la liberación de neurotransmisores	snap25a (C: 20)

Tabla 2: Tabla de genes del TDAH subclínico y genes ortólogos en el pez cebra (*Danio rerio*). Fuente: Tomada y modificada de Neuroscience & Biobehavioral Reviews. Fontana B, et al. mayo 2019 C= Ubicación cromosómica

Con base en esto, las diferentes hipótesis del TDAH se enfocan en la influencia de esas mutaciones en daños a proteínas que están implicadas en la síntesis, degradación, transporte y neurotransmisión de DA, NE y 5HT⁵⁸ (Figura 3); En las figuras 3A y 3B se observa la síntesis de DA y NE respectivamente, cuyo proceso inicia con el aminoácido (AA) tirosina, que gracias a la enzima TH (Tirosina hidroxilasa) es hidroxilado a 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA), finalmente, esta se convierte en DA por la acción de la enzima DOPA descarboxilasa (AADC)^{59,60}.



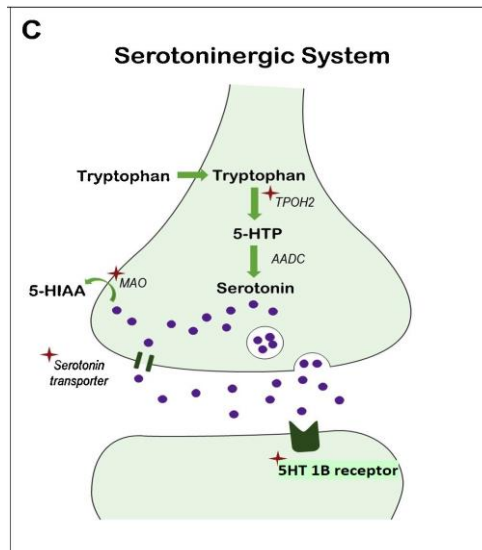


Figura 3: Proteínas implicadas en el TDAH asociadas a los sistemas monoaminérgicos. Se muestran las proteínas implicadas en la síntesis, transporte y degradación de los neurotransmisores implicados en las vías dopaminérgica, serotoninérgica y noradrenérgica. Fuente: Neuroscience & Biobehavioral Reviews. Fontana B, et al. 2019.

En el caso de la NE la dopamina- β -hidroxilasa (DBH) convierte la DA en NE y la feniletanolamina -N -metiltransferasa (PNMT) la transforma en epinefrina (EP), así mismo en la figura 3C se explica el proceso de síntesis de la 5HT, el cual inicia con el AA triptófano que es hidroxilado por medio de la enzima triptófano hidroxilasa (TPH) y se convierte en 5-hidroxitriptófano (5-HTP), transformándose en 5HT tras la acción de la enzima AADC^{59,60}.

4.1.1 Hipótesis dopaminérgica

La DA es una catecolamina implicada en procesos de recompensa, cognición y función motora⁶¹, su neurotransmisión está mediada por receptores excitatorios del tipo D1 (D1 y D5) e inhibitorios del tipo D2 (D2,D3,D4), además, para regular sus niveles es transportada en vesículas por medio del transportador de DA (SLC6A3/SLC6A3), el cual está encargado de su receptación, es metabolizada por medio de la enzima monoamino oxidasa (MAO), encargada de generar ácido 3,4 - dihidroxifenilacético (DOPAC) como metabolito final de la DA, inhibiendo así su metabolismo⁶⁰.

A raíz de esto surge la hipótesis dopaminérgica que explica el TDAH como la incapacidad de suprimir estímulos irrelevantes debido a la disminución en los niveles de DA⁶¹, esta se libera de forma tónica en momentos de concentración en los que

receptores D2 presinápticos mantienen los niveles de DA en el espacio sináptico, y de forma fásica, durante la realización de tareas por medio de los receptores D1 postsinápticos que activan la sinapsis. Por otra parte un desequilibrio en la liberación tónico-fásica de la DA, genera inatención cuando la DA tónica es baja e hiperactividad cuando es alta. En cambio causa impulsividad cuando aumenta la DA fásica^{62,63}.

Es así como se han relacionado las mutaciones en genes como DRD4, cuyo ortólogo en el pez cebra es *drd4a* y *drd4b*, este mantiene los niveles tónicos de dopamina y se ha demostrado que la mutación de 7 repeticiones (DRD4-7R) genera una forma hipofuncional del receptor, disminuyendo la atención en el humano, por la disminución de la señalización tónica en la corteza prefrontal⁶⁴, y el gen DAT1 cuyo ortólogo es *slc6a3*, el cual regula los niveles de dopamina en el espacio sináptico y se cree que la mutación DAT1 3'-UTR VNTR de 10 repeticiones causa una sobreexpresión del transportador, disminuyendo así los niveles de DA⁶⁵.

4.1.2 Hipótesis noradrenérgica

La NE tiene funciones de regulación motora, sensorial, y participa en la regulación del sueño y la vigilia; se cree que hay una deficiencia de NE en el locus coeruleus (LC) en el cual predominan las neurona noradrenérgicas, y al igual que la DA existe un desequilibrio en la liberación tónica y fásica generando una pérdida en el estado de alerta^{66,67}, además, cuenta con los receptores $\alpha 1$ (activadores) e $\alpha 2$ (inhibidores), también es transportada por medio del transportador de noradrenalina (NET/SLC6A2) y metabolizada por MAOA, generando 3,4-dihidroxifenilglicol (DHPG)⁶⁰.

En base a esto, mutaciones en el SNP rs28386840 (3081 A/T) ubicado en la región promotora del gen SLC6A2, genera un aumento en la actividad del transportador y por lo tanto disminuye los niveles no solo de NE, sino también de DA, causando principalmente afecciones a nivel de atención⁶⁸. Otro gen es ADRA2A, que codifica para un receptor que regula la sinapsis de NE, el SNP rs1800544 (C1291G) disminuye la actividad de los receptores postsinápticos, reduciendo así la señalización de NE en la corteza prefrontal, por lo que se ha asociado con síntomas de inatención⁶⁹.

4.1.3 Hipótesis serotoninérgica

La 5HT regula el estado de ánimo y la cognición, este neurotransmisor es transportado por el transportador de serotonina (SLC16A4) a través de vesículas y es degradado a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) por medio de MAO, su neurotransmisión está mediada por receptores 5HTR1 (Inhibidores) y 5HTR2 (excitadores)⁶⁰, en el TDAH se dice que hay una deficiencia de este neurotransmisor y que esta genera síntomas de hiperactividad principalmente, debido a que tiene funciones en la inhibición de comportamientos inapropiados, este mecanismo se ha visto alterado en el TDAH⁷⁰.

En cuanto a mutaciones relacionadas con el TDAH y la serotonina, el gen más relacionado es SCL6A4, el cual codifica para el transportador de serotonina, la mutación consiste en una inserción de 44 pb en el promotor del gen 5-HTT (5-HTTLPR), causando una reducción en la transcripción de serotonina⁷¹, otro gen es MAOA, cuya enzima metaboliza la NE, DA y 5HT para regular su liberación. Mutaciones como el SNP rs6323 (T/G), aumentan la actividad enzimática y están asociados con síntomas de déficit de atención o la repetición en tándem de número variable de tres repeticiones (VNTR de 3R) que disminuye la actividad enzimática y genera hiperactividad⁷².

4.2 Ensayos para determinar fenotipos del TDAH en el Pez cebra

Los tres fenotipos relacionados con el TDAH son hiperactividad, impulsividad y déficit de atención, estos ya se han evaluado en el pez cebra por medio de distintos ensayos, como lo son el ensayo de locomoción, campo abierto y tarea de tiempo de reacción en serie de 5 repeticiones (5-C5RTT), los cuales permiten evaluar, entre otros, fármacos que pueden ser utilizados en el tratamiento.

4.2.1 Ensayo de locomoción

Este ensayo es utilizado para evaluar el fenotipo de hiperactividad en larvas del Pez cebra, ya que determina la frecuencia (Hz) , la duración (ms) y la velocidad del

episodio de nado (mm/s), además el tiempo de nado activo (s) y la distancia total nadada (cm), el ensayo consiste en colocar las larvas individualmente en pozos que contengan medio embrionario y posteriormente se registra la locomoción durante 5 a 10 min por medio de un video automatizado, además es importante tener en cuenta que la larvas deben pasar por un periodo de aclimatación de 10 minutos⁷³.

Para determinar si las larvas presentan un comportamiento hiperactivo, se deben comparar parámetros como la velocidad, entre controles y mutantes^{74,75} o entre los peces sometidos a un tratamiento farmacológico con aquellos que no y así determinar el porcentaje de cambio de esa velocidad, además existen umbrales de velocidad que se han establecido, siendo estos los estallidos ($>2,0$ cm/s) determinado hiperlocomoción, los cruceros (0,5 a 2,0 cm/s) determinar la locomoción normal y el congelamiento ($<0,5$ cm/s) definiendo la hipolocomoción⁷⁶.

4.2.2 Ensayo de campo abierto

Este es un ensayo que permite evaluar la hiperactividad por medio de la locomoción del Pez cebra adulto, está locomoción se mide a través de la velocidad promedio y la distancia recorrida⁷⁷, definiendo así la hiperactividad como el aumento de la velocidad de nado y la distancia recorrida en un tiempo reducido, como se observa en la figura 4 el proceso consiste en colocar al Pez cebra en un tanque en acrílico, grabando su comportamiento por aproximadamente 5 a 15 minutos⁷⁸ por medio de un video automatizado y analizando así los parámetros por medio de un software⁷⁹.

Para determinar si un Pez cebra adulto presenta hiperactividad, se comparan las velocidades de locomoción obtenidas, ya sea de mutantes o de peces sometidos a un tratamiento farmacológico con las velocidades de sus respectivos controles, y así por medio de gráficas se registran las velocidades de cada grupo, determinado el porcentaje de cambio y corroborando si hubo un aumento significativo en la velocidad de locomoción⁸⁰.

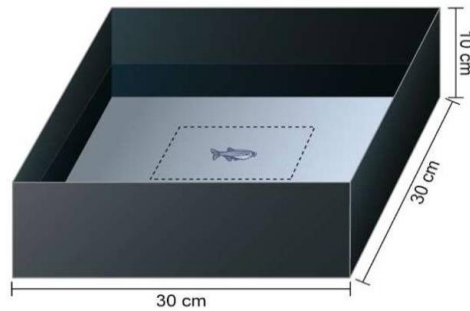


Figura 4: Prueba de campo abierto. Se muestra el instrumento utilizado para evaluar la locomoción en el pez cebra adulto y así determinar si este presenta hiperactividad. Fuente: Sci Rep. Midttun H, et al. 2020

4.2.3 Tarea de tiempo de reacción en serie de 5 repeticiones (5-C5RTT)

Este es un ensayo de video automatizado utilizado para evaluar la atención y la impulsividad en el Pez cebra adulto⁸¹, como se observa en la figura 5, se realiza en un aparato con dos mitades, una mitad es el área de estímulo que consta de 5 luces LED amarillas y la otra mitad es el área de entrega de alimentos con una luz LED verde, el proceso inicia con tres semanas de pre entrenamiento, la primera semana es de habituación, en la segunda semana el Pez se aísla en el área de entrega de alimentos con la luz encendida durante máximo 30 segundos o hasta que el pez entra al compartimento de comida⁸².

Posteriormente, en la semana 3, se aísla el pez cebra al área de entrega de alimento con la luz encendida, se abre la puerta para revelar las aberturas del área de estímulo en la que los LED se iluminan por 1 minuto y cuando el pez pasa se cierra la puerta. Una vez finalizado el pre entrenamiento, sigue el entrenamiento en 5-C5RTT cuyo proceso es similar al de la semana 3, pero solo se enciende una luz de estímulo, además se adiciona un tiempo entre la apertura de la puerta y la iluminación, verificando así la impulsividad como la anticipación a la respuesta, y la atención como la capacidad de responder al estímulo aprendido⁸².

En base a esto, para determinar si el Pez cebra presenta sintomatología de déficit de atención e impulsividad se evalúa la proporción de respuestas acertadas, respuestas anticipatorias y las omisiones al estímulo, comparando los resultados entre diferentes grupos de peces, por ejemplo aquellos sometidos a un tratamiento farmacológico con

los que no, o evaluando la respuestas del mismo grupo en el transcurso de los días, si la proporción de omisiones es mayor a la vez que las respuesta correctas disminuyen refleja déficit de atención en el Pez cebra, además un aumento en las respuestas anticipatorias se interpreta como impulsividad⁸².



Figura 5: Instrumento utilizado en el ensayo de 5-C5RTT. Se muestra el equipo utilizado para determinar el déficit de atención e impulsividad en el Pez cebra, está dividido en dos áreas, un área de entrega de alimento con una luz led verde y un área de estímulo con 5 luces led amarillas.

4.3 Modelado del TDAH en el Pez cebra (Danio rerio)

El modelado del TDAH en el pez cebra (*Danio rerio*) se realiza usualmente en modelos transgénicos, los cuales presentan mutaciones en genes específicos relacionados con el trastorno, en estos transgénicos y/o mutantes se puede evaluar el comportamiento tras la exposición a fármacos agonistas y antagonistas de neurotransmisores o sus receptores, además se pueden evaluar metabolitos de plantas como posible tratamiento, determinando cómo influyen en la mejora de los fenotipos que expresa el Pez cebra mutante.

4.3.1 Evaluación de la hiperactividad en mutantes del Pez cebra mediante análisis de fármacos

El modelo del pez cebra se ha utilizado con el fin evaluar fármacos para TDH, Lage M, et al en el 2018, utilizaron un oligonucleótido antisentido de 25 nucleótidos (oligonucleótido de morfolino), cuya función es unirse al ARNm del gen *lphn3.1* y evitar su traducción, suprimiendo así la síntesis de la proteína.⁸³ Este es ortólogo del gen humano, que codifica para un receptor acoplado a proteína G, el cual regula la liberación de neurotransmisores, se ha demostrado que la mutación de este gen en

el pez cebra genera hiperactividad^{84, 85, 86}. Los investigadores inyectaron este oligonucleótido en larvas del Pez cebra de la cepas salvajes AB, cepas utilizadas para generar los morfantes (MO) de genes involucrados en la síntesis, el transporte y la degradación de DA^{83,85}.

El análisis farmacológico en los peces morfantes (MO) y en controles (CO) fue realizado usando fármacos agonistas (activan) y antagonistas (inhiben) a los receptores de DA. Se utilizó el agonista inespecífico apomorfina (Apo), el cual es inespecífico porque puede actuar tanto en receptores D1 como D2 y su antagonista haloperidol (halo), también el agonista SKF-38393 (SKF) con acción sobre receptores del tipo D1 y su antagonista eticloprida (Etic) y por último el agonista Quinpirol (Qui) con efecto sobre los receptores del tipo D2 y su antagonista SCH-23390 (SCH)⁸⁶.

Este análisis se realizó por medio de la exposición de las larvas a diferentes concentraciones del fármaco en 3 tiempos diferentes (10-20 min, 30-40 min y 50-60 min), para este fin se situaron las larvas en una placa de 24 pocillos que contenían el fármaco disuelto en medio de cultivo embrionario y se colocan dentro del equipo Zebra Box, el cual por medio de video automatizado y un software determinó el porcentaje de cambio de la velocidad en diferentes puntos de tiempo, es decir antes y después de la exposición al fármaco y así como se observa en la tabla 3, se pudo determinar cómo influyen estos fármacos en el comportamiento hiperactivo del pez cebra⁸⁶.

Receptor no específico de la DA (D1 y D2)		
	Fármaco	Acción en el Pez cebra
Agonista	Apomorfina (Apo)	Disminución en la locomoción más marcada en CO (Controles) que en MO (Mutantes).
Antagonista	Haloperidol (Halo)	Aumento en la locomoción, más marcada en MO que en CO
Receptor del tipo D1 de la DA		
Agonista	SKF-38393 (SKF)	Aumento de la locomoción en Co y en MO, sin embargo a medida que avanza el tiempo los MO se vuelven resistentes a la acción del fármaco
Antagonista	SCH-23390 (SCH)	Disminución de la locomoción CO En MO hay un leve aumento en la locomoción, que aumenta a medida que pasa el tiempo

Receptor del tipo D2 de la dopamina		
Agonista	Quinpirole (Qui)	Disminución en la locomoción en Co Los Mo se mostraron resistentes al efecto del fármaco
Antagonista	Eticloprida (Etic)	Disminución de la locomoción en Co y MO, sin embargo los Mo son menos sensibles.

Tabla 3: Influencia de fármacos agonistas y antagonistas de receptores de DA en el comportamiento hiperactivo del Pez cebra. Se muestra un resumen de la acción de los fármacos agonistas y antagonistas de los receptores del tipo D1 y D2, en el comportamiento hiperactivo del Pez cebra. Fuente: Construcción propia en base a Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. Lange M. 2018

Con base a esto y teniendo en cuenta que el sistema dopaminérgico está compuesto por receptores del tipo D1 postsinápticos, los cuales son excitatorios y del tipo D2 presinápticos y postsináptico, los cuales son inhibitorios y excitatorios respectivamente, se señala que en el caso del agonista apo y el antagonista halo el efecto principal fue sobre los receptores del tipo D2 presinápticos, y es por esto que el efecto positivo del agonista disminuyó la locomoción y el efecto negativo del antagonista aumentó la locomoción, ya que no se regula el transporte de DA y aumentan sus niveles⁸⁶.

Por otra parte, el agonista SKF aumenta la locomoción tras la activación de receptores D1, en tanto el antagonista SCH la disminuye ya que los inhibe, sin embargo, los MO tratados con SCH reflejaron resistencia al fármaco, ocasionada por la desensibilización del receptor a medida que avanza el tiempo de exposición, causando así el aumento paulatino en la locomoción. Por último, el agonista Qui disminuye la locomoción, ya que activa los receptores D2 presinápticos, aun así, no tiene efecto sobre los MO, a causa de la desensibilización del receptor, por otro lado, el antagonista etic generó una disminución en la locomoción por su efecto negativo sobre los receptores D2 postsinápticos⁸⁶.

La desensibilización de los receptores es causada por la mutación en el gen lphn3.1, que genera hiposensibilidad a la DA, es decir, los receptores pierden la capacidad de detectar la DA en el espacio sináptico y en respuesta a esto aumenta su liberación, saturando la señalización dopaminérgica y generando hiperactividad, además, esta hiposensibilidad se acrecienta a medida que aumenta la sensibilización de los

fármacos, es por esto que en MO se observa resistencia por parte de los receptores D1 y D2 a medida que aumenta la exposición al fármaco⁸⁶.

4.3.2 Evaluación de isoflavonas en el Pez cebra como tratamiento de la hiperactividad en el TDAH

Las isoflavonas son fitoestrógenos fenólicos presentes en variedad de plantas⁸⁷, y se sabe que tienen la capacidad de restaurar los niveles de liberación de DA⁸⁸, con base en esto Wang T, et al en el 2018 evaluaron la acción terapéutica de 5 isoflavonas presentes en las raíces de *Flemingia philippinensis* en la hiperactividad en larvas del Pez cebra salvajes (W) y mutantes del gen PER1b (period1b -/-) (P), siendo este gen ortólogo del gen PER1 humano, el cual regula los ritmos circadianos y se ha relacionado con el TDAH⁸⁹. La mutación de este gen en el pez cebra genera ritmos circadianos alterados, inatención, hiperactividad y síntomas similares a la impulsividad⁹⁰.

Estas 5 isoflavonas se extrajeron suspendiendo la corteza de la raíz en metanol y centrifugando con el fin de obtener el extracto, este se somete a cromatografía de columna, obteniendo 5 fracciones que son las isoflavonas flemifilipina 1 (PI1), flemifilipina E (PI2), 6,8 dipernilobol (PI3), Flemingsina (PI4) y aurículasina (PI5); posteriormente, se incubaron las larvas con agua del sistema y 20 nmol de la isoflavona o metilfenidato (MPH) como control Positivo, esto con el fin de evaluar la Velocidad (mm/s) por medio de un software de video automatizado, cuyo resultado indica como se observa en la figura 6, que PI5 reflejo un buen índice terapéutico en la disminución de la hiperactividad, sin afectar significativamente a los peces W⁹¹.

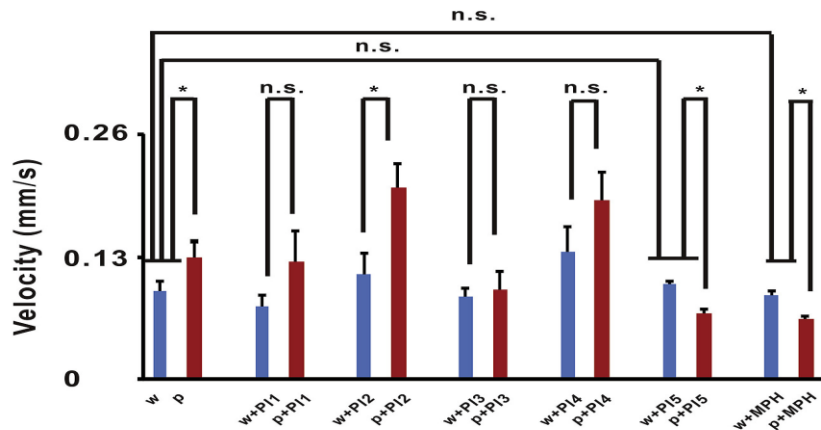


Figura 6: Velocidad en el Pez cebra mutante tratado con isoflavonas. Se observa la velocidad en mm/s del Pez cebra mutante tras ser sometido al tratamiento con las 5 isoflavonas y el MPH. La acción de la aurículasina en peces salvajes (W+P15), no tuvo un cambio significativo (n.s), en cambio la disminución en la velocidad causada en mutantes sometidos a la aurículasina (p+P15), fue significativa (*), similar al efecto generado por el MPH. Fuente: Biochem. Biophys. Res. Commun. Wang T, et al, 2018.

Con base a estos resultados, se evaluó la acción de la aurículasina en los niveles de DA en suero de peces adultos *period1b* ^{-/-} (P), para esto se congelaron los peces y se trituraron, posteriormente se obtuvo el suero por medio de un tubo separador de suero y este se procesó por un ELISA, obteniéndose como resultado que los peces mutantes reflejaron un aumento en los niveles de DA, razón por la cual mejoran los síntomas de hiperactividad, ya que el TDAH es un trastorno principalmente hipodopaminérgico⁹¹.

Por último se realizó una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real transcriptasa inversa (qRT-PCR) a partir de cerebros de Pez cebra adulto mutante tratados con aurículasina, y como se observa en la figura 7, se demostró que la aurículasina aumenta la expresión del gen *Period1b* y su vez este regula la expresión del gen *mao* encargado de la degradación de DA, el cual se encuentra disminuido después del tratamiento con aurículasina y del gen *Th* que participa en la síntesis de DA, el cual aumenta tras el tratamiento, demostrando que la regulación positiva del gen *Period1b* promueve la síntesis de DA y por lo tanto la disminución del comportamiento hiperactivo en el pez cebra mutante⁹¹.

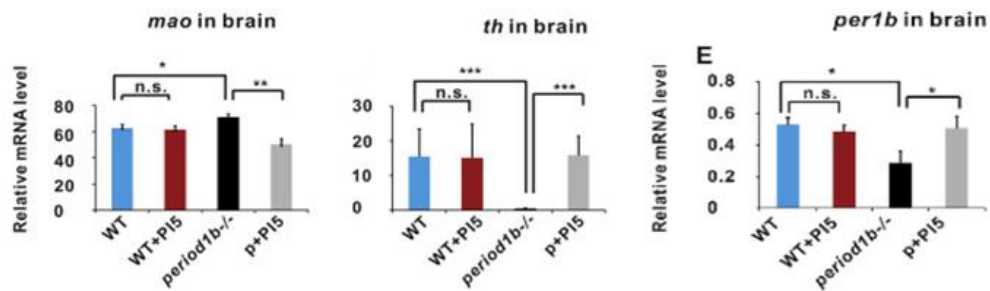


Figura 7: Expresión de genes implicados en la síntesis dopaminérgica después del tratamiento con aurículasina. Se reflejan los niveles de ARNm obtenidos tras realizar la qRT-PCR, observándose aumento en *Per1b* y *th*, y disminución de *mao*, además no hay diferencia entre salvajes (WT) y salvajes tratados con aurículasina (WT). Fuente: Biochem. Biophys. Res. Commun. Wang T, et al. 2018

Se demostró que de las 5 isoflavonas, la aurículasina presenta un mejor índice terapéutico, ya que disminuye significativamente la hiperactividad en cepas mutantes del pez cebra, sin afectación obvia del sistema de análisis, es decir, se enfoca en corregir la alteración específica, en este caso la disminución de la DA causada por la mutación en el gen *Period1b*, demostrando la importancia del uso de cepas mutantes para un gen específico, ya que el pez permite determinar cómo influye el tratamiento en esa alteración conocida⁹¹.

5. Discusión

Esta revisión presenta al Pez cebra (*Danio rerio*) como modelo de investigación del TDAH, ya que permite determinar las implicaciones genéticas del trastorno y así, por medio de diversos ensayos y fármacos, se pueden evaluar los fenotipos característicos del TDAH, es decir, hiperactividad, impulsividad y déficit de atención, además permite ampliar el conocimiento actual acerca de opciones terapéuticas para tratar estos síntomas.

Al desarrollo del TDAH se le atribuye un factor genético, el cual es de relevancia ya que destacan genes implicados en la neurotransmisión de DA, NE y 5HT, a raíz de esto surgen tres hipótesis, siendo estas la hipótesis dopaminérgica, serotoninérgica y noradrenérgica, destacándose las alteraciones genéticas a nivel dopaminérgico como causa principal en el desarrollo del trastorno¹², con base en esto se determinó que el TDAH se genera tras la deficiencia de DA, sin embargo hay estudios que han identificado un aumento en la misma, siendo este un tema de debate actual⁶².

A raíz de esta contrariedad surge la hipótesis dopaminérgica, en la cual se habla de una liberación tónica de la DA, cuya disminución o aumento genera déficit de atención o hiperactividad respectivamente, y una liberación fásica aumentada implicada en la impulsividad, siendo el desequilibrio en la liberación tónica-fásica lo que genera los síntomas, esto es porque la DA tónica aumenta cuando el individuo requiere prestar atención y la fásica cuando este necesita cambiar de actividad, así que al alterarse afecta la inhibición de la respuesta y por lo tanto el individuo no va a controlar sus impulsos motores, aumentando la impulsividad y la hiperactividad, disminuyendo así su capacidad atencional, como se ha demostrado en varios estudios.^{62, 92.}

Debido a que las alteraciones en la liberación de DA pueden ser causadas por mutaciones genéticas, se ha descrito en el Pez cebra una lista de genes ortólogos relacionados con el TDAH y precisamente se clasifican según el sistema al que afectan⁵⁸, sin embargo se ha estudiado en más medida el sistema dopaminérgico², ya que se ha identificado la población de neuronas dopaminérgicas en el tubérculo posterior del Pez cebra, además se informa que la DA se desarrolla desde los 5 dpf⁵², por esta razón este modelo ha adquirido relevancia científica para evaluar las alteraciones dopaminérgicas de este trastorno⁵³.

Con el fin de evaluar el comportamiento del Pez cebra se utilizan larvas o peces adultos mutantes para un gen en específico, y aunque se ha informado una duplicación en el genoma del Pez, se dice que para dos copias de un gen, las proteínas codificadas tienen la misma función o se complementan o pueden diversificarse funcionalmente, es lo que se denomina neofuncionalización⁵², para evaluar esto se han descrito tres ensayos, el ensayo de locomoción y el de campo abierto determinan la hiperactividad en larvas y Peces adultos respectivamente, y el ensayo 5-C5RTT determina el déficit de atención e impulsividad en el pez cebra adulto^{58, 73,77,2}, sin embargo aún no existe un ensayo para evaluar la inatención en las larvas⁸².

Con base en estos ensayos, Lage M, et al en el 2018 determinaron el impacto del tratamiento con fármacos agonistas y antagonistas de los receptores de DA en el comportamiento hiperactivo del Pez cebra MO para el gen *lphn3.1*, al relacionar los

resultados obtenidos en la investigación con la teoría de la liberación tónica-fásica de la DA. Se señala que la hiperactividad depende de los receptores D2, para los cuales, el agonista Qui disminuye la locomoción ya que el estímulo se asimila como un aumento de la DA y por esta razón la recaptan, causando su disminución en el espacio sináptico, sin embargo la desensibilización causada en el morfante genera que la disminución en la locomoción no sea marcada en los MO^{60, 61, 62, 63, 83}.

En el caso del antagonista D2 el cual se cree inhibe a los receptores D2 postsinápticos, impide el transporte de DA, acumulándose esta en la hendidura sináptica y en respuesta los receptores la recaptan disminuyendo su cantidad, causando la disminución en la locomoción, es decir que este tipo de fármacos que actúan contra los receptores del tipo D2, son una buena opción terapéutica. En cuanto a los receptores D1, el antagonista SCH aumenta la locomoción en MO, ya que al bloquear el transporte de DA, esta se acumula en la hendidura sináptica, y los receptores D2 no la recaptan ya que están desensibilizados^{60, 61, 62, 63, 83}.

Por otro lado, Wang T, et al en el 2018 determinaron que la aurículasina presenta un buen índice terapéutico en la disminución de la hiperactividad en el Pez cebra mutante para el gen Period1b, esta mejora terapéutica se debe al aumento de los niveles de DA en el Pez cebra, además se destaca que la aurículasina tuvo un efecto terapéutico similar al MPH⁹¹, el fármaco de elección para tratar el TDAH, pero que al ser estimulante podría generar trastorno por uso de sustancias³⁶, así que se busca una terapia alternativa la cual se enfoque específicamente en regular la liberación de DA, es decir generar un equilibrio en la liberación tónica-fásica^{62, 63}.

El Pez cebra se presenta como modelo novedoso para evaluar el comportamiento y tratamiento del TDAH, el cual presenta tres síntomas característicos que son hiperactividad, impulsividad y déficit de atención (16), los cuales se han evaluado en el modelo por medio de distintos ensayos(58), además la incorporación de herramientas genéticas como el uso de oligonucleótidos, ha permitido generar morfantes para los genes ortólogos alterados en el TDAH (86), esto es de relevancia ya que este es un trastorno poligénico (13), que depende de la interacción de muchos genes, así que el pez cebra abre la puerta a un sin fin de investigaciones posibles acerca de cómo influye el factor genético en el desarrollo del TDAH.

Esto permite ampliar el conocimiento existente sobre los factores genéticos del TDAH, cómo influye en los síntomas y a su vez cómo influyen estos en la vida de la persona, permitiendo que padres y docentes comprendan cuáles pueden ser las posibles causas del TDAH. A nivel investigativo el modelo permite evidenciar el proceso de desarrollo neuronal y seguirlo hasta la etapa adulta, e incluso por medio de sustancias para las que es susceptible^{2,57} se puede evaluar la interacción gen ambiente. Se espera que con futuras investigaciones se logre evaluar el déficit de atención en las larvas del pez cebra, además generar modelos que permitirá evaluar la interacción entre genes y así determinar no solo cómo influye la DA, sino también los otros neurotransmisores.

6. Conclusiones

- El pez cebra presenta variedad de ventajas como modelo de investigación para el TDAH, una de estas son los genes ortólogos y que además se clasifican según el sistema al que afectan.
- Existen tres hipótesis relacionadas con el TDAH, la hipótesis serotoninérgica, noradrenérgica y dopaminérgica, siendo esta última la más estudiada en el TDAH, la cual habla de la teoría tónica-fásica de la DA que explica cómo surge cada uno de los síntomas.
- Existen ensayos que permiten evaluar los tres síntomas característicos del TDAH en el pez cebra, tanto en larvas como en adultos, el ensayo de locomoción determina la hiperactividad en larvas y el ensayo de campo abierto en adultos, por último el ensayo de 5-C5RTT determina la impulsividad e inatención en el Pez cebra adulto.
- Por medio de técnicas de manipulación de la expresión génica como el uso de oligonucleótido de morfolino se han desarrollado peces mutantes para distintos genes ortólogos, los cuales en el humano son predisponentes para el desarrollo de la patología, como los son los genes LPHN3 y PER1, que indirectamente están implicados en la sinapsis dopaminérgica.
- Someter los mutantes del pez cebra a tratamiento con fármacos agonistas y antagonistas de receptores de DA y permiten relacionar las alteraciones en estos receptores en el desarrollo de síntomas como la hiperactividad.

- El modelo permite desarrollar la investigación a nivel farmacológico, lo cual es importante ya que se puede evaluar la acción de fármacos existentes, y así mismo permite proponer nuevas alternativas farmacológicas como la aurículasina.

Referencias bibliográficas

1. Mahone E, Denckla M. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Historical Neuropsychological Perspective. *J Int Neuropsychol Soc* [Internet] 2017 [Cited 5 Feb 2021]; 23 (916–929). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5724393/>
2. Bonan C, Norton W. The utility of zebrafish as a model for behavioural genetics. *Current Opinion in Behavioral Sciences* [Internet] 2015 [Cited 5 feb 2021]; 2 (34-38), Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S2352154614000059>
3. Sakai C, Ijaz S, Hoffman E. Zebrafish Models of Neurodevelopmental Disorders: Past, Present, and Future. *Front Mol Neurosci* [Internet] 2018 [Cited 10 Feb 2021]; 11 (294). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6123572/>
4. Dalla E, Mortimer N, Palladino V, Kittel-Schneider S, Lesch K, Reif A, et al. Cross-species models of attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder: lessons from CNTNAP2, ADGRL3, and PARK2. *Psychiatric Genetics* [Internet] 2019 [Cited 10 Feb 2021]; 29 (1-17). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7654943/>
5. Cervantes-Henriquez M, Acosta-López J, Ahmad M, Sánchez-Rojas M, Jiménez-Figueroa G, Pineda-Alhucema W, et al. ADGRL3, FGF1 and DRD4: Linkage and Association with Working Memory and Perceptual Organization Candidate Endophenotypes in ADHD. *Brain Sci* [Internet] 2021 [Cited 10 Feb 2021]; 11(7). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8301925/>
6. Regan S, Hufgard J, Pitzer E, Sugimoto C, Hu Y, Williams M, et al. Knockout of latrophilin-3 in Sprague-Dawley rats causes hyperactivity, hyper-reactivity, under-response to amphetamine, and disrupted dopamine markers. *Neurobiol Dis.* [Internet] 2019 [Cited 10 Feb 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6689430/>
7. Mortimer N, Ganster T, O'Leary A, Popp S, Freudenbergal F, Reif A. Dissociation of impulsivity and aggression in mice deficient for the ADHD risk gene Adgrl3: Evidence for dopamine transporter dysregulation. *Neuropharmacology* [Internet] 2019 [Cited 12 Feb 2021]; 156. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0028390819300784>
8. van der Voet M, Harich B, Franke B, Schenck A. ADHD-associated dopamine transporter, latrophilin and neurofibromin share a dopamine-related locomotor signature in Drosophila. *Mol Psychiatry* [Internet] 2016 [Cited 13 feb 2021]; 21 (565–573). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4804182/>
9. Campbell P, Granato M. Zebrafish as a tool to study schizophrenia-associated copy number variants. *Dis Model Mech* [Internet] 2020 [Cited 14 feb 2021] 13 (4). Available in: <https://journals.biologists.com/dmm/article/13/4/dmm043877/224285/Zebrafish-as-a-tool-to-study-schizophrenia>
10. Brenner R, Oliveri A, Sinnott-Armstrong W, Levin E. Effects of Sub-Chronic Methylphenidate on Risk Taking and Sociability in Zebrafish (*Danio rerio*). *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* [Internet] 2020 [Cited 14 feb 2021]; 393 (1373–1381). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7716188/>

11. Dark C, Williams C, Bellgrove M, Hawi Z, Bryson-Richardson R. Functional validation of CHMP7 as an ADHD risk gene. *Transl Psychiatry* [Internet] 2020 [Cited 14 feb 2021]; 10. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7648633/>
12. Drechsler R, Brem S, Brandeis D, Grünblatt E, Berger, Walitza S. ADHD: Current Concepts and Treatments in Children and Adolescents. *Neuropediatrics* [Internet] 2020 [Cited 15 feb 2021]; 51 (315–335). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7508636/>
13. Faraone S, Larsson H. Genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry* [Internet] 2019 [Cited 15 feb 2021]; 24 (562–575). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6477889/>
14. Puentes-Rozo P, Acosta-López J, Cervantes-Henríquez M, Martínez-Banfi M, Mejía-Segura E, Sánchez-Rojas M, et al. Genetic Variation Underpinning ADHD Risk in a Caribbean Community. *Cells* [Internet] 2019 [Cited 15 feb 2021]; 8 (907). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6721689/>
15. van der Meer D, Hoekstra P J, van Donkelaar M, Bralten J, Oosterlaan J, Heslenfeld D, et al. Predicting attention-deficit/hyperactivity disorder severity from psychosocial stress and stress-response genes: a random forest regression approach. *Transl Psychiatry* [Internet] 2017 [Cited 15 feb 2021]; 7. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5537639/>
16. Dark C, Homman-Ludiye J, Bryson-Richardson R. The role of ADHD associated genes in neurodevelopment. *Developmental Biology* [Internet] 2018 [Cited 10 mar 2021]; 483 (69-83). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0012160617306887>
17. Bahn G, Lee Y, Yoo H, Kim E, Park S, Han D, et al. Development of the Korean Practice Parameter for Adult Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Soa Chongsonyon Chongsin Uihak* [Internet] 2020 [Cited 10 mar 2021]; 31(5–25). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7324844/>
18. Wolraich M, Hagan J, Allan C, Chan E, Davison D, Earls M, et al. Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Children and Adolescents. *Pediatrics* [Internet] 2019 [Cited 10 mar 2021]; 144 (4). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7067282/>
19. Franke B, Michelini G, Asherson P, Banaschewski T, Bilbow A, Buitelaar J. Live fast, die young? A review on the developmental trajectories of ADHD across the lifespan. *Eur Neuropsychopharmacol* [Internet] 2018 [Cited 10 mar 2021]; 28 (1059–1088). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6379245/>
20. Castells X, Blanco-Silvente L, Cunill R. Amphetamines for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in adults. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet] 2018 [Cited 11 mar 2021]; 2018 (8). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6513464/>
21. Faraone S, Banaschewski T, Coghill D, Zheng Y, Biederman J, Bellgrove M, et al. The World Federation of ADHD International Consensus Statement: 208 Evidence-based conclusions about the disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* [Internet] 2021 [Cited 11 mar 2021]. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S014976342100049X>
22. Miranda P, Cox C, Alexander M, Danev S, Lakey J. In Quest of Pathognomonic/Endophenotypic Markers of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD): Potential of EEG-Based Frequency Analysis and ERPs to Better Detect, Prevent and Manage ADHD. *Med Devices* [Internet] 2020 [Cited 11 mar 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7250294/>
23. Osland S, Steeves T, Pringsheim T. Pharmacological treatment for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children with comorbid tic disorders. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet] 2018 [Cited 11 mar 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6513283/>
24. Champ R, Adamou M, Tolchard B. The impact of psychological theory on the treatment of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in adults: A scoping review. *PLoS One*

- [Internet] 2021 [Cited 11 mar 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8691636/>
25. Dunn G, Nigg J, Sullivan E. Neuroinflammation as a Risk Factor for Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Pharmacol Biochem Behav* [Internet] 2019 [Cited 11 mar 2021]; 182 (22–34). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6855401/>
26. Posner J, Polanczyk G, Sonuga-Barke E. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet* [Internet] 2020 [Cited 12 mar 2021]; 395 (450–462). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7880081/>
27. Núñez-Jaramillo L, Herrera-Solís A, Herrera-Morales W. ADHD: Reviewing the Causes and Evaluating Solutions. *J Pers Med* [Internet] 2021 [Cited 12 mar 2021]; 11(166). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7999417/>
28. Yadav S, Bhat A, Hashem S, Nisar S, Kamal M, Syed N, et al. Genetic variations influence brain changes in patients with attention-deficit hyperactivity disorder. *Transl Psychiatry* [Internet] 2021 [Cited 12 mar 2021]; 11(349). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8179928/>
29. van der Meer D, Hartman C, van Rooij D, Franke B, Heslenfeld D, Oosterlaan J, Faraone S, et al. Effects of dopaminergic genes, prenatal adversities, and their interaction on attention-deficit/hyperactivity disorder and neural correlates of response inhibition. *J Psychiatry Neurosci* [Internet] 2017 [Cited 12 mar 2021]; 42 (113–121). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5373700/>
30. Singh A, Yeh C, Verma N, Das A. Overview of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Young Children. *Health Psychol Res* [Internet] 2015 [Cited 12 mar 2021]; 3 (2115). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4768532/>
31. Banaschewski T, Becker K, Döpfner M, Holtmann M, Rösler M, Romanos M. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, A Current Overview. *Dtsch Arztebl Int* [Internet] 2017 [Cited 12 mar 2021]; 114 (149–159). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5378980/>
32. Luo Y, Weibman D, Halperin J, Li X. A Review of Heterogeneity in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). *Front Hum Neurosci* [Internet] 2019 [Cited 12 feb 2021]; 13. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6378275/>
33. Singh P. Network and pathway enrichment analysis of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder candidate genes. *Indian J Psychiatry* [Internet] 2020 [Cited 20 feb 2021]; 62 (400-406). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7597701/>
34. Bonvicini C, Faraone S, Scassellati C. Common and specific genes and peripheral biomarkers in children and adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *World J Biol Psychiatry* [Internet] 2018 [Cited 23 feb 2021]; 19 (80-100). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5568996/>
35. Klein M, Onnink M, van Donkelaar M, Wolfers T, Harich B, Shi Y, et al. Brain imaging genetics in ADHD and beyond – mapping pathways from gene to disorder at different levels of complexity. *Neurosci Biobehav Rev*. [Internet] 2017 [Cited 25 feb 2021]; 80 (115–155.). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6947924/>
36. Gold M, MD, Blum K, Oscar-Berman M, Braverman E. Low Dopamine Function in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder: Should Genotyping Signify Early Diagnosis in Children? *Postgrad Med* [Internet] 2014 [Cited 25 feb 2021]; 126 (153-177). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4074363/>
37. de la Peña I, Pan M, Thai C, Alisso T. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Predominantly Inattentive Subtype/Presentation: Research Progress and Translational Studies. *Brain Sci* [Internet] 2020 [Cited 27 feb 2021]; 10 (292). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7287898/>
38. Gallo E, Posner J. Moving towards causality in attention-deficit hyperactivity disorder: overview of neural and genetic mechanisms. *Lancet Psychiatry* [Internet] 2016 [Cited 27 feb 2021]; 3 (555-567). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4893880/>
39. Bonvicini C, Cortese S, Maj C, Baune B, Faraone S, Scassellati C. DRD4 48 bp multiallelic variants as age-population-specific biomarkers in attention-deficit/hyperactivity

- disorder. *Transl Psychiatry* [Internet] 2020 [Cited 28 feb 2021]; 10 (70). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7031506/>
40. Pinto R, Asherson P, Iliot N, Cheung M, Kuntsi J. Testing for the mediating role of endophenotypes using molecular genetic data in a twin study of ADHD traits. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* [Internet] 2016 [Cited 28 feb 2021]; 171 (982–992). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5031223/>
41. Nemoda Z, Angyal N, Tarnok Z, Birkas E, Bogner E, Sasvari-Szekely M, et al. Differential Genetic Effect of the Norepinephrine Transporter Promoter Polymorphisms on Attention Problems in Clinical and Non-clinical Samples. *Front Neurosci* [Internet] 2018 [Cited 28 feb 2021]; 12 (1051). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6339888/>
42. Sigurdardottir H, Kranz G, Rami-Mark C, James G, Vanicek T, Gryglewski G, et al. Association of norepinephrine transporter methylation with in vivo NET expression and hyperactivity–impulsivity symptoms in ADHD measured with PET. *Mol Psychiatry* [Internet] 2021 [Cited 28 feb 2021]; 26 (1009–1018). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7910214/>
43. Elsayed N, Yamamoto K, Froehlich T. Genetic Influence on Efficacy of Pharmacotherapy for Pediatric Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Overview and Current Status of Research. *CNS Drugs* [Internet] 2020 [Cited 28 feb 2021]; 34 (389–414). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8083895/>
44. Huang H, Wu L, Yu S, Wu B, Lua A, Lee S, et al. The Alpha-2A Adrenergic Receptor Gene -1291C/G Single Nucleotide Polymorphism is Associated with the Efficacy of Methylphenidate in Treating Taiwanese Children and Adolescents with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Psychiatry Investig* [Internet] 2018 [Cited 3 mar 2021]; 15 (306–312). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900374/>
45. Park J, Son D, Kim Y, Han D. Brain Network Connectivity and Association with Catechol-O-Methyltransferase Gene Polymorphism in Korean Attention-Deficit Hyperactivity Disorder Children. *Psychiatry Investig* [Internet] 2020 [Cited 3 mar 2021]; 17 (925–933). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7538244/>
46. Abraham E, Scott M, Blair C. Catechol-O-methyltransferase Val158Met Genotype and Early-Life Family Adversity Interactively Affect Attention-Deficit Hyperactivity Symptoms Across Childhood. *Front Genet* [Internet] 2020 [Cited 5 mar 2021]; 11 (724). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381281/>
47. Norton W. Toward developmental models of psychiatric disorders in zebrafish. *Front Neural Circuits* [Internet] 2013 [Cited 6 mar 2021]; 7 (79). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3636468/>
48. Kalueff A, Stewart A, Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Elsevier* [Internet] 2014 [Cited 6 mar 2021]; 35 (63–75). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0165614713002290>
49. Bradford Y, Toro S, Ramachandran S, Ruzicka L, Howe D, Eagle A, et al. Zebrafish Models of Human Disease: Gaining Insight into Human Disease at ZFIN. *ILAR J* [Internet] 2017 [Cited 6 mar 2021]; 58 (4–16). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5886338/>
50. Imai Y, Olaya I, Sakai N, Burgess S. Meiotic Chromosome Dynamics in Zebrafish. *Front Cell Dev Biol* [Internet] 2021 [Cited 6 mar 2021]; Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8531508/>
51. Shin M, Field T, Stucky C, Furgurson M, Johnson M. Ex vivo measurement of electrically evoked dopamine release in zebrafish whole brain. *ACS Chem Neurosci* [Internet] 2018 [Cited 6 mar 2021]; Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5846466/>
52. Vaz R, Outeiro T, Ferreira J. Zebrafish as an Animal Model for Drug Discovery in Parkinson’s Disease and Other Movement Disorders: A Systematic Review. *Front Neurol* [Internet] 2018 [Cited 6 mar 2021]; Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5992294/>

53. Khan K, Collier A, Meshalkina D, Kysil E, Khatsko S, Kolesnikova T, et al. Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery. *Br J Pharmacol* [Internet] 2017 [Cited 7 mar 2021]; 174 (1925–1944). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5466539/>
54. Vaz R, Hofmeister W, Lindstrand A. Zebrafish Models of Neurodevelopmental Disorders: Limitations and Benefits of Current Tools and Techniques. *Int J Mol Sci* [Internet] 2019 [Cited 10 mar 2021]; 20 (1296). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6471844/>
55. de Abreu M, Genario R, Giacomini A, Demin K, Lakstygala A, Amstislavskaya T, et al. Zebrafish as a Model of Neurodevelopmental Disorders. *Neuroscience* [Internet] 2020 [Cited 12 mar 2021]; 445 (3-11). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0306452219306074>
56. Rodríguez C. Efecto de la temperatura en la determinación sexual durante la fase de desarrollo del zebrafish (*Danio rerio*). [Ingeniería de Sistemas Biológicos]. Barcelona: Universitat Politècnica de Catalunya Universitat Politècnica de Catalunya; 2016.
57. Stewart A, Braubach O, Spitsbergen J, Gerlai R, Kalueff A. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *Trends Neurosci* [Internet] 2015 [Cited 15 mar 2021]; 37 (264–278). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4039217/>
58. Fontana B, Franscescon F, Rosemberg D, Norton W, Kalueff A, Parker M. Zebrafish models for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* [Internet] 2019 [Cited 20 mar 2021]; 100 (9-18). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0149763418308807>
59. Cannon S, Barone H, Kleppe R, Betari N, Reif A, Haavik J. ADHD symptoms in neurometabolic diseases: Underlying mechanisms and clinical implications. [Internet] 2022 [Cited 20 mar 2021]; 132 (838-856). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0149763421005054>
60. Horzmann K, Freeman L. Zebrafish Get Connected: Investigating Neurotransmission Targets and Alterations in Chemical Toxicity. *Toxics* [Internet] 2016 [Cited 20 mar 2021]; 4 (19). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5515482/>
61. Lohr K, Masoud S, Salahpour A, Miller G. Membrane transporters as mediators of synaptic dopamine dynamics: implications for disease. *Eur J Neurosci* [Internet] 2017 [Cited 22 abr 2021]; 45 (20–33). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5209277/>
62. Badgaiyan R, Sinha S, Sajjad M, Wack D. Attenuated Tonic and Enhanced Phasic Release of Dopamine in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *PLoS One* [Internet] 2015 [Cited 22 abr 2021]; 10 (9). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4589406/>
63. Aboitiz F, Ossandón T, Zamorano F, Billeke P. Balance en la cuerda floja: la neurobiología del trastorno por déficit atencional e hiperactividad. *Revista Médica Clínica Las Condes* [Internet] 2012 [Citado 28 abr 2021]; 23 (559-565). Tomado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012703504>
64. Aboitiz F, Ossandón T, Zamorano F, Palma B, Carrasco X. Irrelevant stimulus processing in ADHD: catecholamine dynamics and attentional networks. *Front Psychol* [Internet] 2014 [Cited 5 may 2021]; 5 (183). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3972460/>
65. Grünblatt E, Werling A, Roth A, Romanos M, Walitza S. Association study and a systematic meta-analysis of the VNTR polymorphism in the 3'-UTR of dopamine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *J Neural Transm (Vienna)* [Internet] 2019 [Cited 6 may 2021]; 126 (517–529). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6456487/>
66. Egroo M, Koshmanov E, Vandewalle G, Jacobs H. Importance of the locus coeruleus-norepinephrine system in sleep-wake regulation: Implications for aging and Alzheimer's disease. *Sleep Medicine Reviews* [Internet] 2022 [Cited 15 may 2021]; 62 (101-592).

- Available in:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S1087079222000053>
67. Christiansen L, Beck M, Bilenberg, Wienecke J, Astrup A, Lundbye-Jensen J. Effects of Exercise on Cognitive Performance in Children and Adolescents with ADHD: Potential Mechanisms and Evidence-based Recommendations. *J Clin Med* [Internet] 2019 [Cited 15 may 2021]; 8 (841). Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6617109/>
68. Thakur G, Sengupta S, Grizenko N, Choudhry Z, Joobar R. Comprehensive Phenotype/Genotype Analyses of the Norepinephrine Transporter Gene (SLC6A2) in ADHD: Relation to Maternal Smoking during Pregnancy. *PLoS One* [Internet] 2012 [Cited 20 may 2021]; 7 (11). Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3502190/>
69. Elsayed N, Yamamoto K, Froehlich T. Genetic Influence on Efficacy of Pharmacotherapy for Pediatric Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Overview and Current Status of Research. *CNS Drugs* [Internet] 2020 [Cited 20 may 2021]; 34 (389–414). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2928286/>
70. Banerjee E, Nandagopal K. Does serotonin deficit mediate susceptibility to ADHD?. *Neurochemistry International* [Internet] 2015 [Cited 27 may 2021]; 82 (52-68). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0197018615000212>
71. Toshchakova V, Bakhtiari Y, Kulikov A, Gusev S, Trofimova M, Fedorenko O, et al. Association of Polymorphisms of Serotonin Transporter (5HTTLPR) and 5-HT2C Receptor Genes with Criminal Behavior in Russian Criminal Offenders. *Neuropsychobiology* [Internet] 2018 [Cited 28 may 2021]; 75 (200–210). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5981829/>
72. Hwang I, Lim M, Kwon H, Jin H. Association of Monoamine Oxidase A (MAOA) Gene uVNTR and rs6323 Polymorphisms with Attention Deficit and Hyperactivity Disorder in Korean Children. *Medicina (Kaunas)* [Internet] 2018 [Cited 1 jun 2021]; 54 (32). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6122096/>
73. Ingebretson J, Masino M. Quantification of locomotor activity in larval zebrafish: considerations for the design of high-throughput behavioral studies. *Frontiers in Neural Circuits* [Internet] 2013 [Cited 18 jun 2021]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2013.00109/full>
74. Roberts A, Alzagatiti J, Ly D, Chornak J, Ma Y, Razee A, et al. Induction of Short-Term Sensitization by an Aversive Chemical Stimulus in Zebrafish Larvae. *eNeuro* [Internet] 2020 [Cited 26 jun 2021]; 7 (6). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7729299/>
75. Siregar P, Audira G, Feng L, Lee J, Santoso F, Yu W, et al. Pharmaceutical Assessment Suggests Locomotion Hyperactivity in Zebrafish Triggered by Arecoline Might Be Associated with Multiple Muscarinic Acetylcholine Receptors Activation. *Toxins (Basel)* [Internet] 2021 [Cited 26 jun 2021]; 13 (259). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8066688/>
76. Hussain A, Audira G, Siregar P, Lin Y, Villalobos O, Villaflores O, et al. Waterborne Exposure of Paclobutrazol at Environmental Relevant Concentration Induce Locomotion Hyperactivity in Larvae and Anxiolytic Exploratory Behavior in Adult Zebrafish. *Int J Environ Res Public Health* [Internet] 2020 [Cited 26 jun 2021]; 17 (4632). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7369995/>
77. Souza T, Franscescon F, Stefanello F, Müller T, Santos L, Rosemberg D. Acute effects of ethanol on behavioral responses of male and female zebrafish in the open field test with the influence of a non-familiar object. *Behavioural Processes* [Internet] 2021 [Cited 27 jun 2021]; 191. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0376635721001583>
78. Midttun H, Vindas M, Nadler L, Overli O, Johansen I. Behavioural effects of the common brain-infecting parasite *Pseudoloma neurophilia* in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Sci Rep* [Internet] 2020 [Cited 5 jul 2021]; 10 (8083). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228949/>

79. Bühler A, Carl M. Zebrafish Tools for Deciphering Habenular Network-Linked Mental Disorders. *Biomolecules* [Internet] 2021 [Cited 15 jul 2021]; 11 (324). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7924194/>
80. Wang Z, Zhao H, Xu Y, Zhao J, Song Z, Bi Y, et al. Early-life lead exposure induces long-term toxicity in the central nervous system: From zebrafish larvae to juveniles and adults. *Science of The Total Environment* [Internet] 2022 [Cited 24 jun 2021]; 804. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0048969721052621>
81. Meshalkina D, Kizlyk M, Kysil E, Collier A, Echevarria D, Abreu M, et al. Understanding zebrafish cognition. *Behavioural Processes* [Internet] 2017 [Cited 25 jul 2021]; 141 (229-241). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0376635716303825>
82. Parker M, Brock A, Sudwarts A, Brennan C. Atomoxetine reduces anticipatory responding in a 5-choice serial reaction time task for adult zebrafish. *Psychopharmacology* [Internet] 2014 [Cited 2 ago 2021]; 231 (2671–2679). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2425/article/10.1007/s00213-014-3439-z>
83. Moulton J. Using Morpholinos to Control Gene Expression. *Curr Protoc Nucleic Acid Chem* [Internet] 2017 [Cited 10 ago 2021]; 68 (4301–43029). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7162182/>
84. Oliveri A, Levin E. Dopamine D1 and D2 Receptor Antagonism During Development Alters Later Behavior in Zebrafish. *Behav Brain Res* [Internet] 2019 [Cited 10 ago 2021]; 356 (250–256). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6192051/>
85. Lange M, Norton W, Coolen M, Chaminade M, Merker S, Proft F, et al. The ADHD-susceptibility gene *lphn3.1* modulates dopaminergic neuron formation and locomotor activity during zebrafish development. *Molecular Psychiatry* [Internet] 2012 [Cited 15 ago 2021]; 17 (946–954). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2395/articles/mp201229>
86. Lange M, Froc C, Grunwald H, Norton W, Bally-Cuif L. Pharmacological analysis of zebrafish *lphn3.1* morphant larvae suggests that saturated dopaminergic signaling could underlie the ADHD-like locomotor hyperactivity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* [Internet] 2018 [Cited 20 ago 2021]; 84 (181-189). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0278584617307339>
87. Křížová L, Dadáková K, Kašparovská J, Kašparovský T. Isoflavones. *Molecules* [Internet] 2019 [Cited 2 sep 2021]; 24 (1076). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6470817/>
88. Kim I. Current Perspectives on the Beneficial Effects of Soybean Isoflavones and Their Metabolites for Humans. *Antioxidants* [Internet] 2021 [Cited 5 sep 2021]; 10 (1064). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8301030/>
89. Vilor-Tejedor N, Alemany S, Cáceres A, Bustamante M, Mortamais M, Pujol J, et al. Sparse multiple factor analysis to integrate genetic data, neuroimaging features, and attention-deficit/hyperactivity disorder domains. *Int J Methods Psychiatr Res* [Internet] 2018 [Cited 6 sep 2021]; 27 (1738). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6877273/>
90. Huang J, Zhong Z, Wang M, Chen X, Tan Y, Zhang S, et al. Circadian Modulation of Dopamine Levels and Dopaminergic Neuron Development Contributes to Attention Deficiency and Hyperactive Behavior. *Journal of Neuroscience* [Internet] 2015 [Cited 7 sep 2021]; 35 (2572-2587). Available in: <https://www.jneurosci.org/content/35/6/2572>
91. Wang T, Liuc Y, Liu H, Li C, Wang Y. Auriculasin from *Flemingia philippinensis* roots shows good therapeutic indexes on hyperactive behavior in zebrafish. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [Internet] 2018 [Cited 21 sep 2021]; 503 (1254-1259). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0006291X18315286>
92. Vander C, Siciliano C, Tye K. Dopamine tunes prefrontal outputs to orchestrate aversive processing. *Brain Res* [Internet] 2019 [15 ene 2021]; 1713 (16–31). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7575248/>