

위스타 랫드의 충동성 조절에 대한 세로토닌의 역할

김정아 · 정재훈[#]

삼육대학교 의명신경과학연구소

(Received July 10, 2015; Revised July 30, 2015; Accepted August 4, 2015)

Serotonin as a Possible Modulator of Impulsive Behavior in Wistar Rats

Chong Ah Kim and Jae Hoon Cheong[#]

Uimyung Research Institute for Neuroscience, Sahmyook University, 815 Hwarang-ro, Nowon-gu, Seoul 01795, Korea

Abstract — We compared impulsive behaviors in Wistar rats and in Wistar-Kyoto rats. There was no significant difference in locomotor activity between them. However, Wistar rats showed high activity in 5-choice serial reaction time track. When Wistar rats were treated with atomoxetine (3 mg/kg), methylphenidate (2 mg/kg) or amphetamine (2 mg/kg), they showed less impulsive behavior. Serotonin contents in prefrontal cortex and brain stem also increased. In conclusion, we suggest that Wistar rats could be used as animal model for impulsive behavior analysis. In addition, serotonin might be related with this impulsivity.

Keywords □ Wistar rat, WKY, impulsivity, locomotor activity, serotonin

위스타 랫드는 위스타 연구소가 1906년 개발한 흰쥐의 한 품종으로 모색은 백색이고 운순하고 성장속이 빠르고 산자 수도 많으며 발육도 좋아 의학 및 생물학연구에 널리 사용되어 왔다.¹⁾ 이 동물은 Sprague Dawley 랫드에 비해 활발한 행동학적 특성을 나타내고, 주의력결핍/과잉행동장애(ADHD)의 모델 동물로 알려진 본태성 고혈압쥐(SHR)도 이 동물에서 유래하였다.¹⁾ 또한 일부 연구에서 위스타 랫드는 위스타-교토 랫드(WKY)에 비해 종종 높은 충동성을 나타내었고,²⁾ 높은 사전자극 억제(prepulse inhibition, PPI)를 나타내었다.³⁾ 위스타 랫드를 고 충동성과 저 충동성으로 구분하였을 때 고 충동성 위스타 랫드는 SHR과 유사한 충동성을 나타내었다.⁴⁾ WKY는 SHR처럼 위스타 랫드에서 유래했으나, SHR과는 달리 혈압도 높지 않고, 충동행동이나 과잉행동도 나타내지 않으므로 SHR 또는 위스타 랫드의 특정 행동에 대한 대조 동물로 많이 사용되어 왔다.⁵⁾ 이상을 볼 때, 위스타 랫드는 높은 충동성을 나타낼 수 있으나 그 신경생물학적

기전에 대한 근거는 미흡하다.

충동성은 합리적 사전 숙고 없이 근시적 판단에 따라 갑작스럽게 표출되는 행동의 특성을 일컫는 용어로서 ADHD의 핵심 증상 중 하나이며,⁶⁻⁸⁾ 품행장애, 학습장애, 반항장애, 적응장애 및 정서장애와 연관되어 있고, 생활습관과 관련하여 흡연, 음주나 약물남용 시 증가하는 경향이 있다.⁹⁾ 충동성은 크게 기능적 충동성과 기능부전적 충동성으로 구분할 수 있으며,¹⁰⁾ 그 발현에는 주의력, 운동성 및 계획성과 같은 요소들이 관여되어 있다.¹¹⁾ 충동행동은 인지와 행동 장애의 결과로서 억제성 조절의 결손, 돌발 행동 결정, 보상 지연에 대한 과민성, 처벌 둔감성 및 짧은 주의 주기와 같은 특성을 포함한다. 이러한 특성에 기초하여 충동행동 수준은 로만고 회피 흰쥐 모델,¹²⁾ 선천성고혈압쥐 모델(SHR),¹³⁾ 5-choice serial reaction time task(5-CSRTT)에 대한 자연 발생 고 충동 발생 모델¹⁴⁾과 지연 디스카운팅 시험(delay discounting task)^{15,16)} 등으로 평가될 수 있다. 충동성과 관련한 신경생물학적 연구는 ADHD와 관련하여 많은 연구들이 수행되었다. 모노아민성 신경의 신호전달체계 이상 즉, 대뇌피질-선조체 신경회로에서 도파민, 노르아드레날린 및 세로토닌의 활성 변화, 그 대사 효소와 수용체들의 이상 등이 충동성 발현에 연계된 것으로 보고되었으나¹⁷⁾ 정확한 신경행동학적 기전은 아직 밝혀져 있지 않다. ADHD의 충동성은 메틸페니데이트 및 암페타민과 같

[#]Corresponding Author

Jae Hoon Cheong

Uimyung Research Institute for Neuroscience, Sahmyook University, 815 Hwarang-ro, Nowon-gu, Seoul 01795, Korea

Tel.: 02-3399-1605 Fax.: 02-3399-1617

E-mail: cheongh@syu.ac.kr

은 정신자극제 혹은 아토크세틴과 같은 비자극제로 조절하고 있다.

이에 본 연구에서는 위스타 랫드와 위스타-교토 랫드(WKY)의 충동성 관련 행동 특성을 비교하고, 충동성을 완화시키는 약물들의 반응 즉, 행동학적 변화와 신경화학적 변화를 비교 분석함으로써 위스타 랫드의 충동 행동 발현에 영향을 주는 인자를 검색하고자 한다.

실험방법

실험재료

메틸페니데이트의 표준품은 식품의약품안전처에서 분양받아 사용하였고, 암페타민, 아토크세틴, 도파민, 세로토닌(5-HT), 내부 표준물질인 3,4-디히드록시벤질아민 하이드로브로마이드(DHBA), 산화알루미늄은 시그마-알드리치(St. Louis, Mo, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 그 밖의 시약들도 특급제품을 사용하였다.

실험동물

사용된 실험 동물은 위스타 랫드와 위스타-교토 랫드(WKY)로서 6주령 웅성을 한림 실험동물 주식회사(화성, 한국)에서 구입하여 1주일간 안정화시킨 후 사용하였다. 1주일간의 안정화 기간과 실험 기간 중 실험동물은 항온($22 \pm 3^\circ\text{C}$), 항습($55 \pm 5\%$), 적절한 조명($200 \sim 300 \text{ LUX}$) 및 40 dB 이하의 소음 환경이 유지되었고 하루 12시간 단위(07:00~19:00, 명)로 명암 주기가 조절되었으며, 사육기간 동안 음식과 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 실험동물들에게 1주일간 약물이 투여되었고 실험 당일에는 투여 약물을 복강 내 주사하고 30분 후에 각 실험을 시행하였다. 모든 동물실험은 실험동물 관리 원칙(NIH Publication No. 85-23 revised 1985)과 삼육대학교 동물관리 규정에 따라 시행되었다.

약물 처치

각 군당 실험동물의 수는 8~10마리였고, 처치군에는 아토크세틴(3 mg/kg), 메틸페니데이트(2 mg/kg)와 암페타민(2 mg/kg)을, 대조군에는 생리식염수 동량을 1일 1회 7일간 복강 내 주사하였다. 투여 30분 후, 매일 일반 운동 활성을 측정하였고, 7일간 투여 후 충동성을 측정하였으며, 행동 측정 후 뇌를 적출하여 뇌조직 중 도파민과 세로토닌 함량을 측정하였다.

일반 운동 활성

실험동물의 일반 운동 활성을 측정하기 위해 비디오 모니터-컴퓨터 시스템으로 체계화된 EthoVision System(Noldus IT b.v., Netherlands)을 활용하였다.¹⁸⁾ 시험 박스(47×47×42 cm) 중앙에 실험동물을 놓고 10분간 움직이는 거리를 측정하였다.¹⁸⁾ 이 실험

을 통해 얻은 결과는 정신 운동 기능의 향진과 저하 정도의 자료로 활용하였다.

지연 디스카운팅 시험(Delay discounting task; DDT)

지연 디스카운팅 시험은 충동 행동을 평가하기 위한 방법으로 본 연구에서는 Adriani의 방법을 부분 변경해서 시행하였다.¹³⁾ 시험 2일 전에 사육 케이지에서 사료를 제거하여 실험동물의 식이 동기를 강화시켰다. 식이 동기가 강화된 실험동물이 좌우 2개의 4.5 cm 길이의 레버와 좌측 레버 6 cm 위에 전구가 장착된 표준작용상자(Coulbourn Instruments, Allentown, Pennsylvania, USA)에서 레버를 누르면(25 g 무게 이상) 45 mg 한 조각의 사료가 공급되도록 2일간 30분씩 훈련하였다. 1차로 레버를 누르는 훈련을 시행한 후, 2차로 오른쪽 레버를 누르면 한 조각 사료가 공급되고, 전구의 자극 등이 커지고 왼쪽 레버를 누르면 다섯 조각의 사료가 공급되지만 공급 후 30초가 지난 후에 레버를 눌렀을 때 사료가 나오도록 하였으며, 그전에 레버를 아무리 눌러도 사료가 공급되지 않도록 하였다. 식이 동기가 강화되어 있는 충동성이 높은 실험동물은 계속 레버를 누르게 되고, 충동성이 낮은 실험동물들은 다섯 조각의 사료를 공급하는 레버 작동을 선택하는 원리이다. 레버를 누르는 것에 대한 모든 자료는 Graphic State Notation software(Coulbourn Instruments)에 의해 모니터 되고 분석되었다. 충동성은 레버 누르는 횟수 당 다섯 조각의 사료를 공급하는 레버 작동을 선택하는 횟수의 비율(%)로 평가하였다.

뇌조직 중 도파민과 세로토닌 함량 측정

행동시험 후 실험동물을 단두치사한 후 신속하게 뇌를 적출하고 전전뇌피질, 선조체 및 뇌간을 분리하여 5배(중량/용량)의 0.1 N HClO₄, 0.4 mM Na₂S₂O₃ 액으로 균질화한 후 12000×g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다.¹⁹⁾ 상등액 중 도파민과 세로토닌 함량은 Nasuti 등의 방법을 일부 변경하여 측정하였다.^{20,21)} 상등액 100 μl당 Al₂O₃ 100 mg이 함유된 A 완충액(trima 1 M) 850 μl와 내부 표준물질 50 μl를 첨가하여 교반한 후 1,600×g에서 원심분리하였다. B 완충액(trima 0.01 M) 1 ml로 2회 세정하고 초산 0.2 M로 유출시켰다. 상등액 100 μl를 LC-MS(Waters 1525 series chromatography coupled to a room-thermostated mass spectrometry, a 100 mm×46 mm 2.6 μm C18 column equipped with a C18-filter security guard system)로 분석하였다. 이동상은 AcCN 8%, MeOH 16%, TFA(trifluoroacetic acid) 1%로 구성하였고 유속은 0.5 ml/min로 조정하였다. 취득시간(acquisition time)은 8분이었고, 분석 조건은 source temp=150°C, 탈용-매온도=350°C, 압력=3200 psi였다. 도파민 표준농도 검정은 0.5 ppm부터 10 ppm(5 calibrators: 0.5 ppm, 1 ppm, 2.5 ppm, 5 ppm, 10 ppm)에서 작성되었고, 세로토

닌은 0.025 ppm부터 1 ppm(6 calibrators: 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.1 ppm, 0.25 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm)에서 작성되었다. 도파민과 세로토닌의 양은 ng/조직 mg으로 표시하였다.

통계분석

모든 실험 결과는 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로 유의성 검증을 하였으며 유의성이 있을 경우 post-hoc 분석법으로는 Bonferroni test로 검정하여 $p < 0.05$ 인 경우에 유의성이 있다고 판단하였다. 모든 통계 분석은 GraphPad Prism Version 5 software(California, USA)를 사용하였다.

결과 및 고찰

일반 운동 활성

실험동물의 일반 운동 활성은 일주일간 하루 한번씩, 10분간 움직인 거리로 측정하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 생리식염수를 투여한 위스타 랫드와 WKY의 이동거리는 유사하여 유의성 있는 차이가 없었다. 두 동물 모두 메틸페니데이트와 암페타민 투여에 의해 운동 활성이 증가하였으나, 아토목세틴 투여에 의해선 유의성 있는 영향을 받지 않았다. 메틸페니데이트와 암페타민 투여에 의한 운동 활성 증가는 다른 연구 결과와도 일치한다.^{3,22,23} 약물 투여에 의한 운동 활성의 변화도 두 동물에서 유사한 양상을 나타내었다. 다만, WKY의 운동 활성의 변화는 일정한 양상을 보이는 반면, 위스타 랫드에서 약물 반응의 일간 변

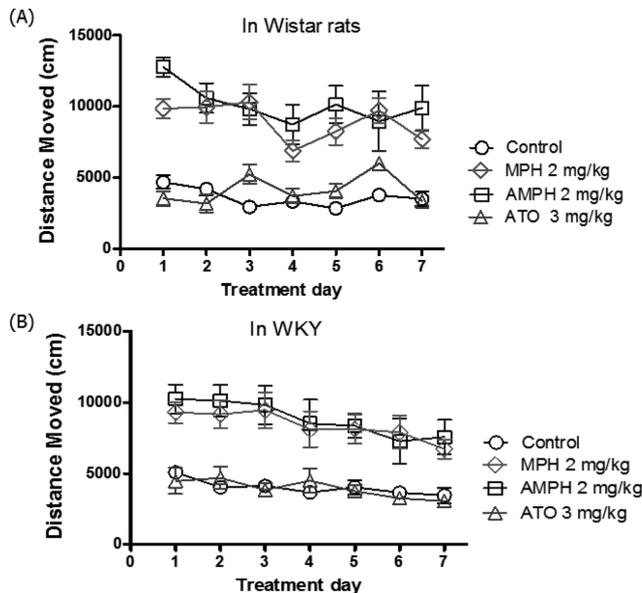


Fig. 1 – Locomotor activity in rats. Wistar rats (A) and WKY (B) were treated with methylphenidate (MPH) 2 mg/kg, amphetamine (AMPH) 2 mg/kg or atomoxetine (ATO) 3 mg/kg for 7 days. Saline was used as control drug. The data represent the mean±S.E.M.. WKY: Wistar Kyoto rats.

화 폭이 상대적으로 큰 것으로 나타났다. 이는 위스타 랫드가 상대적으로 불안정한 정신-운동 활성을 나타내고 있음을 시사한다.

지연 디스카운팅 시험(Delay discounting task; DDT)

Fig. 2에서 보는 바와 같이 충동 행동을 평가하기 위한 지연 디스카운팅 시험에서 다섯 조각의 사료를 공급받기위하여 30초간 기다렸다가 레버를 누르는 비율이 위스타 랫드는 WKY에 비해 유의성 있게 낮았다. 이는 위스타 랫드가 WKY에 비해 충동적이며, 위스타 랫드가 충동 행동 평가의 동물 모델로 활용될 수 있음을 시사한다. 메틸페니데이트와 암페타민을 상대적으로 충동적인 위스타 랫드에 투여하였을 때 통계적 유의성은 없었지만 30초간 기다렸다가 레버를 누르는 비율의 평균치가 증가하였고, 아토목세틴의 투여는 30초간 기다렸다가 레버를 누르는 비율을 유의성 있게 증가시켰다. 이는 메틸페니데이트, 암페타민, 특히 아토목세틴의 투여가 위스타 랫드의 충동적 행동을 개선할 수 있음을 시사한다. SD 랫드나 WKY에 비해 뚜렷한 충동적 행동을 나타내는 실험동물은 ADHD 모델 동물로 널리 알려진 SHR이다.^{3,13,25} 사람이나 SHR에서 나타나는 충동성은 메틸페니데이트의 투여에 의해 유의성 있게 개선되었지만,²⁶⁻²⁸ 위스타 랫드에서 충동성은 아토목세틴의 투여에 의해서만 유의성 있게 개선되었다. 메틸페니데이트와 암페타민은 신경절에서 카테콜아민, 특히, 도파민 수송체에 의한 도파민의 재흡수를 억제하여 신경절 도파민 농도를 증가시키는 것으로 고려되고 있는 반면,^{27,28} 아토목세틴은 도파민 수송체 뿐 만 아니라 세로토닌 수송체까지 억제하여 신경절에서 도파민과 함께 세로토닌 농도도 증가시킨다.^{29,30} 이는 위스타 랫드에서 나타나는 충동 행동이 SHR에서 나타나는 충동행동과 다를 수 있음을 시사한다.

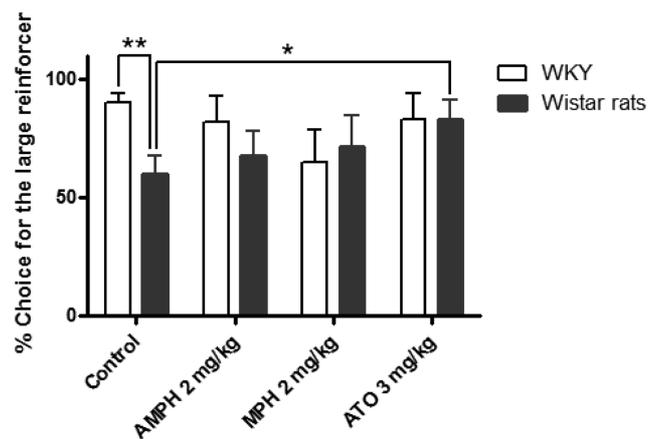


Fig. 2 – Delay discounting task in rats after treated with methylphenidate (MPH) 2 mg/kg, amphetamine (AMPH) 2 mg/kg or atomoxetine (ATO) 3 mg/kg for 7 days. Saline was used as control drug. The data represent the mean±S.E.M..* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by ANOVA. WKY: Wistar Kyoto rats.

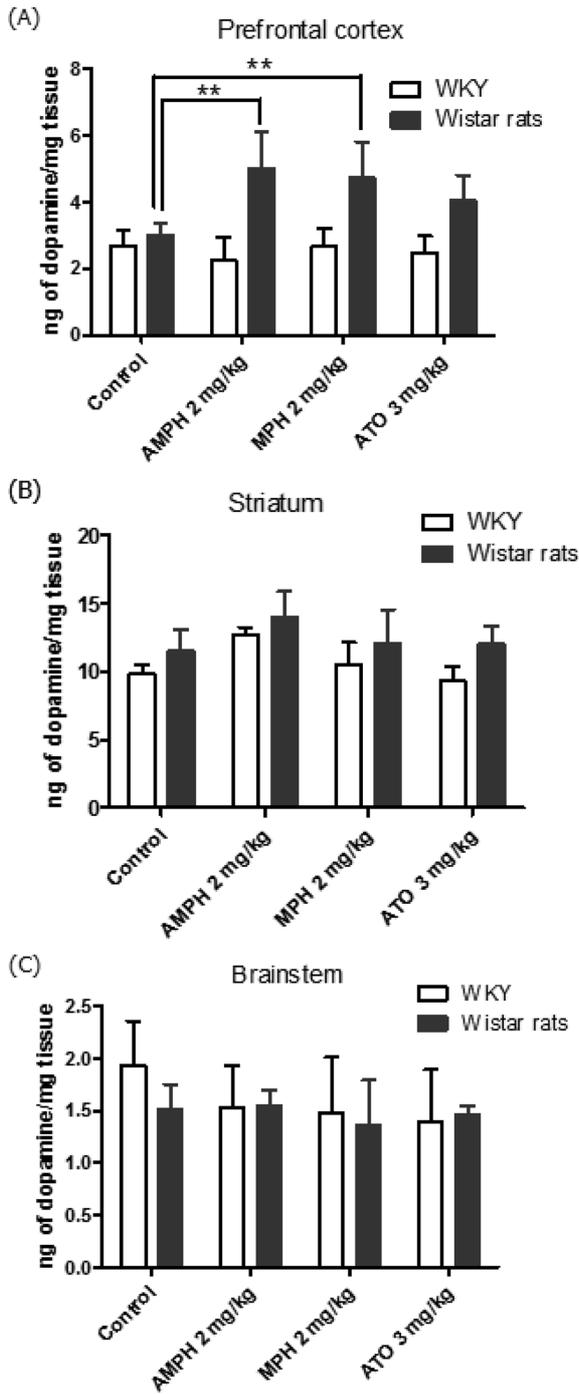


Fig. 3 – Dopamine contents in rat brains. Rats were treated with methylphenidate (MPH) 2 mg/kg, amphetamine (AMPH) 2 mg/kg or atomoxetine (ATO) 3 mg/kg for 7 days. Saline was used as control drug. Prefrontal cortex (A), striatum (B) and brainstem (C) were collected and dopamine contents were measured. The data represent the mean± S.E.M.. ** $p < 0.01$ by ANOVA. WKY: Wistar Kyoto rats.

뇌조직 중 도파민과 세로토닌 함량 측정

Fig. 3과 4에서 보는 바와 같이 위스타 랫드와 WKY의 뇌조직

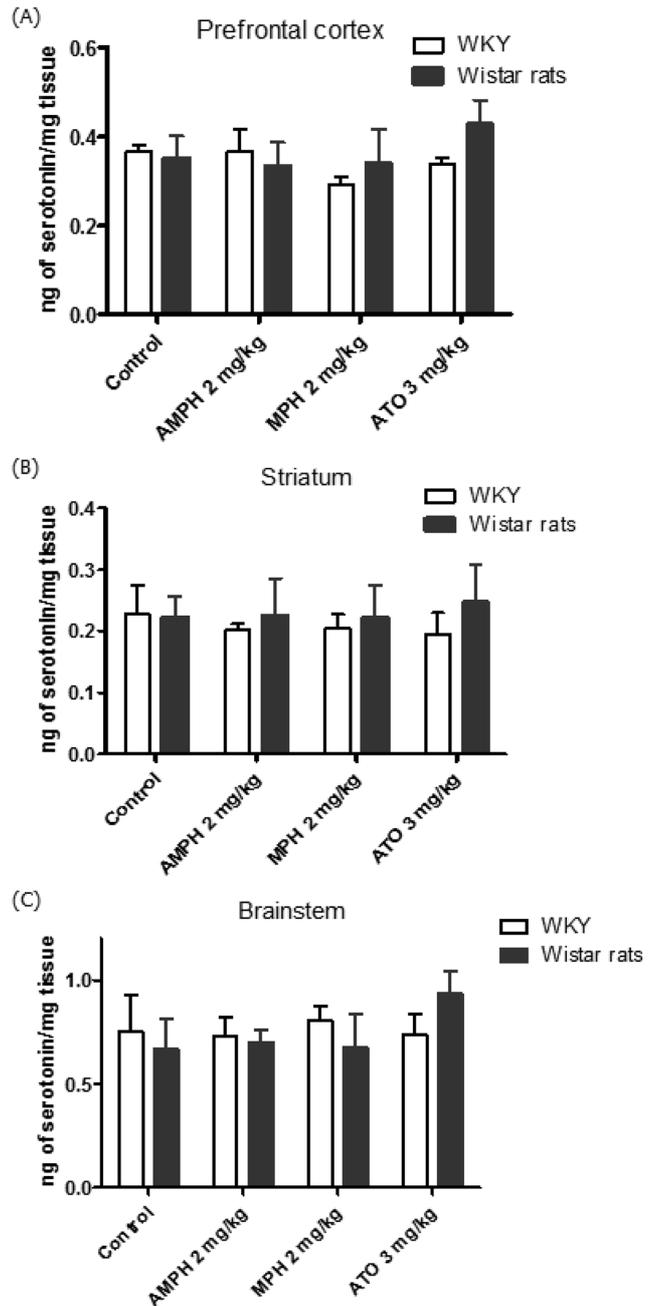


Fig. 4 – Serotonin contents in rat brains. Rats were treated with methylphenidate (MPH) 2 mg/kg, amphetamine (AMPH) 2 mg/kg or atomoxetine (ATO) 3 mg/kg for 7 days. Saline was used as control drug. Prefrontal cortex (A), striatum (B) and brainstem (C) were collected and serotonin contents were measured. The data represent the mean± S.E.M.. WKY: Wistar Kyoto rats.

중 도파민 또는 세로토닌 함량은 차이가 없었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 1주일간 메틸페니데이트, 암페타민 및 아토목세틴의 투여는 위스타 랫드에서 충동 행동의 감소를 유도하였을 뿐만 아니라 전전뇌피질의 도파민 함량을 증가시켰으나 선조체와

뇌간에서 도파민 함량에는 변화를 주지 않았다. 아토크세틴의 투여에 의해 전전뇌피질의 평균 도파민 함량은 대조군에 비해 높았으나 통계적 유의성은 없었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 메틸페니데이트나 암페타민의 투여는 뇌조직 중 세로토닌의 함량에 변화를 주지 않았다. 아토크세틴을 투여한 위스타 랫드의 전전뇌피질과 뇌간에서 평균 세로토닌 함량은 대조군에 비해 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 충동행동은 전전뇌피질에서 도파민성 또는 세로토닌성 신경 활성의 변화와 연관이 있다.^{17,31} 도파민 함량을 증가시키는 메틸페니데이트나 암페타민이 충동행동을 완화시켰고, p-클로로암페타민 같은 세로토닌 고갈 유도물질이 충동행동을 유발하였다.³² 본 연구에서 위스타 랫드와 WKY 간 뇌조직 중 도파민 또는 세로토닌 함량의 차이가 없는 것으로 보아 위스타 랫드에서 높은 충동행동은 도파민이나 세로토닌 신경의 활성화에 기인하지 않을 가능성이 있음을 시사한다. 충동행동의 발현에는 도파민이나 세로토닌성 신경 외에도 흥분성 아미노산이나 GABA(γ -aminobutyric acid)가 관여한다.^{33,34} 그러나 아토크세틴의 투여로 위스타 랫드에서 충동행동이 완화되고 통계적 유의성은 없었지만, 전전뇌피질과 뇌간의 평균 세로토닌 함량은 대조군에 비해 높다는 것은 충동행동에 대한 세로토닌 관련성을 배제할 수 없게 한다. 향후 세로토닌 신경활성을 확인하기 위해 세로토닌 유리 등을 측정하는 추가 연구가 필요하다.

결 론

본 연구 결과는 위스타 랫드가 WKY에 비해 일반 운동 활성에선 차이가 없지만 충동행동에서 높은 활성을 나타내므로 위스타 랫드가 충동 행동 평가의 동물 모델로 활용될 수 있음을 시사한다. 위스타 랫드와 WKY간 뇌조직 중 도파민 또는 세로토닌 함량의 차이가 없는 것으로 보아 위스타 랫드에서 높은 충동행동은 도파민이나 세로토닌 신경의 활성화에 기인하지 않을 가능성이 있음을 시사하나, 아토크세틴의 투여로 위스타 랫드에서 충동행동이 완화되고 통계적 유의성은 없었지만, 전전뇌피질과 뇌간의 평균 세로토닌 함량이 증가하므로 세로토닌의 관련성을 배제할 수 없는 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 2014년 삼육대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 수행되었다.

References

- 1) Clause, B. T. : The Wistar Institute Archives: Rats (Not Mice) and History. *Mendel Newsl.* Feb(7), 2 (1998).
- 2) Bizot, J. C., Chenault, N., Houz , B., Herpin, A., David, S., Pothion, S. and Trovero, F. : Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats. *Psychopharmacology (Berl)* **193**, 215 (2007).
- 3) Drolet, G., Proulx, K., Pearson, D., Rochford, J. and Deschepper, C. F. : Comparisons of behavioral and neurochemical characteristics between WKY, WKHA, and Wistar rat strains. *Neuropsychopharmacology* **27**, 400 (2002).
- 4) Ibias, J. and Pell n, R. : Different relations between schedule-induced polydipsia and impulsive behaviour in the Spontaneously Hypertensive Rat and in high impulsive Wistar rats: Questioning the role of impulsivity in adjunctive behaviour. *Behav. Brain. Res.* **271**, 184 (2014).
- 5) Zhang-James, Y., Middleton, F.A. and Faraone, S. V. : Genetic architecture of Wistar-Kyoto rat and spontaneously hypertensive rat substrains from different sources. *Physiol. Genomics* **45**, 528 (2013).
- 6) Ainslie, G. : *Breakdown of Will*. Cambridge University Press, Cambridge; New York (2001).
- 7) Evenden, J. L. : Varieties of impulsivity. *Psychopharmacology* **146**, 348 (1999).
- 8) Groman, S. M., James, A. S. and Jentsch, J. D. : Poor response inhibition: at the nexus between substance abuse and attention deficit/hyperactivity disorder. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **33**, 690 (2009).
- 9) Garza, K. B., Ding, M., Owensby, J. K. and Zizza, C. A. : Impulsivity and fast-food consumption: A cross-sectional study among working adults. *J. Acad. Nutr. Diet.* pii: S2212 (2015).
- 10) Dickman, S. J. : Functional and dysfunctional impulsivity: personality and cognitive correlates. *J. Pers. Soc. Psychol.* **58**, 95 (1990).
- 11) Patton, J. H., Stanford, M. S. and Barratt, E. S. : Factor structure of the Barratt impulsiveness scale. *J. Clin. Psychol.* **51**, 768 (1995).
- 12) Moreno, M., Cardona, D., G mez, M. J., Sánchez-Santed, F., Tobe a, A., Fernández-Teruel, A., Campa, L., Sunol, C., Escarabajal, M. D., Torres, C. and Flores, P. : Impulsivity characterization in the Roman high- and low-avoidance rat strains: behavioral and neurochemical differences. *Neuropsychopharmacology* **35**, 1198 (2010).
- 13) Adriani, W., Caprioli, A., Granstrem, O., Carli, M. and Laviola, G. : The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **27**, 639 (2003).
- 14) Dalley, J. W., Fryer, T. D., Brichard, L., Robinson, E. S., Theobald, D. E., L  ne, K., Pena, Y., Murphy, E. R., Shah, Y., Probst, K., Abakumova, I., Aigbirio, F. I., Richards, H. K., Hong, Y., Baron, J. C., Everitt, B. J. and Robbins, T. W. :

- Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science* **315**, 1267 (2007).
- 15) Broos, N., Diergaarde, L., Schoffelmeer, A. N., Pattij, T. and De Vries, T. J. : Trait impulsive choice predicts resistance to extinction and propensity to relapse to cocaine seeking: a bidirectional investigation. *Neuropsychopharmacology* **37**, 1377 (2012).
 - 16) Perry, J. L., Joseph, J. E., Jiang, Y., Zimmerman, R. S., Kelly, T. H., Darna, M., Huettl, P., Dwoskin, L. P. and Bardo M. T. : Prefrontal cortex and drug abuse vulnerability: Translation to prevention and treatment interventions. *Brain. Res. Rev.* **65**, 124 (2011).
 - 17) Jupp, B., Caprioli, D. and Dalley, J. W. : Highly impulsive rats: modelling an endophenotype to determine the neurobiological, genetic and environmental mechanisms of addiction. *Dis. Models Mech.* **6**, 302 (2013).
 - 18) Yoon, S. Y., Dela Peña, I., Kim, S. M., Woo, T. S., Shin, C. Y., Son, K. H., Park, H., Lee, Y. S., Ryu, J. H., Jin, M., Kim, K. M. and Cheong, J. H. Oroxylin A improves attention deficit hyperactivity disorder-like behaviors in the spontaneously hypertensive rat and inhibits reuptake of dopamine in vitro. *Arch. Pharm. Res.* **36**, 134 (2013).
 - 19) Spijker, S. : *Dissection of rodent brain regions*. Ka Wan Li (Ed.), Neuroproteomics, Springer, New York, p.13 (2011).
 - 20) Cannazza, G., Di Stefano, A., Mosciatti, B., Braghiroli, D., Baraldi, M., Pinnen, F., Sozio, P., Benatti, C. and Parenti, C. : Detection of levodopa, dopamine and its metabolites in rat striatum dialysates following peripheral administration of l-DOPA prodrugs by mean of HPLC-EC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **36**, 1079 (2005).
 - 21) Nasuti, C., Carloni, M., Fedeli, D., Gabbianelli, R., Di Stefano, A., Serafina, C. L., Silva, I., Domingues, V. and Ciccocioppo, R. : Effects of early life permethrin exposure on spatial working memory and on monoamine levels in different brain areas of pre-senescent rats. *Toxicology* **303**, 162 (2013).
 - 22) Yetnikoff, L. and Arvanitogiannis, A. : Differential sensitivity to the acute and sensitizing behavioral effects of methylphenidate as a function of strain in adolescent and young adult rats. *Behav. Brain Funct.* **9**, 38 (2013).
 - 23) Valvassori, S. S., Frey, B. N., Martins, M. R., Réus, G. Z., Schimidtz, F., Inácio, C. G., Kapczinski, F. and Quevedo, J. : Sensitization and cross-sensitization after chronic treatment with methylphenidate in adolescent Wistar rats. *Behav. Pharmacol.* **18**, 205 (2007).
 - 24) Li, Q., Lu, G., Antonio, G. E., Mak, Y. T., Rudd, J. A., Fan, M. and Yew, D. T. : The usefulness of the spontaneously hypertensive rat to model attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) may be explained by the differential expression of dopamine-related genes in the brain. *Neurochem. Int.* **50**, 848 (2007).
 - 25) Sagvolden, T. : Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neurosci. Biobehav. Rev.* **24**, 31 (2000).
 - 26) Sunohara, G. A., Malone, M. A., Rovet, J., Humphries, T., Roberts, W. and Taylor, M. J. : Effect of methylphenidate on attention in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): ERP evidence. *Neuropsychopharmacology* **21**, 218 (1999).
 - 27) Dommett, E. J. : Using the five-choice serial reaction time task to examine the effects of atomoxetine and methylphenidate in the male spontaneously hypertensive rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **124**, 196 (2014).
 - 28) Slezak, J. M. and Anderson, K. G. : Effects of acute and chronic methylphenidate on delay discounting. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **99**, 545 (2011).
 - 29) Bymaster, F. P., Katner, J. S., Nelson, D. L., Hemrick-Luecke, S. K., Threlkeld, P. G., Heiligenstein, J. H., Morin, S. M., Gehlert, D. R. and Perry, K. W. : Atomoxetine increases extracellular levels of norepinephrine and dopamine in prefrontal cortex of rat: a potential mechanism for efficacy in attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology* **27**, 699 (2002).
 - 30) Pillidgea, K., Portera, A. J., Vasilias, T., Healb, D. J. and Stanforda, S. C. : Atomoxetine reduces hyperactive/impulsive behaviours in neurokinin-1 receptor 'knockout' mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **127**, 56 (2014).
 - 31) Winstanley, C. A., Eagle, D. M. and Robbins, T. W. : Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin. Psychol. Rev.* **26**, 379 (2006).
 - 32) Dalley, J. W. and Roiser, J. P. : Dopamine, serotonin and impulsivity. *Neuroscience* **215**, 42 (2012).
 - 33) Floresco, S. B., Tse, M. T. and Ghods-Sharifi, S. : Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making. *Neuropsychopharmacology* **33**, 1966 (2008).
 - 34) Boy, F., Evans, C. J., Edden, R. A., Lawrence, A. D., Singh, K. D., Husain, M. and Sumner, P. : Dorsolateral prefrontal gamma-aminobutyric acid in men predicts individual differences in rash impulsivity. *Biol. Psychiatry* **70**, 866 (2011).