



# Universidad Nacional Autónoma de México

Programa de Maestría y Doctorado en Psicología

Neurociencias de la Conducta

## Mecanismos Farmacológicos y Conductuales de la Estimación Temporal

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN PSICOLOGÍA  
P R E S E N T A  
HUGO SÁNCHEZ CASTILLO

Jurado de Examen de Grado:  
Director: Dr. David Velázquez Martínez  
Tutor Adjunto: Dr. Enrique Hong Chong  
Tutor Externo: Dr. Roberto Prado Alcalá  
Sinodales: Dr. Arturo Bouzas Riaño  
Dr. Javier Nieto Gutiérrez  
Dr. Alonso Fernández Güasti  
Dr. Florencio Miranda Herrera

México D.F. 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Para Olga:

Por toda una historia de amor compartido...

Y lo que falta

Porque para escribirte todo lo que  
quiero me llevaría otra tesis

Agradecimientos:

A mi madre por todo el apoyo brindado desde siempre. A mis hermanos Felipe y Aideé, por que se que siempre estarán conmigo, y porque saben que siempre estaré con ellos. A mi padre por demostrar el valor de saber afrontar los fantasmas del pasado y demostrar que la hombría no es más que el ser responsable de nuestros actos. A mi tío Joel por la lucha por la vida que siempre debemos de mostrar. A mí cuñado Rodolfo por su honestidad y por nunca dejar de luchar por una vida mejor. A mis tíos Juventino y Licha por enseñarme el valor de la tierra. A toda mi familia, tíos, tías Romana e Inés, primos y primas por su respeto de siempre. A mis amigos de toda la vida Cristian y Carlos por que aún en los peores momentos siempre conté con ustedes.

En especial a mi tutor principal el Dr. David Velázquez Martínez, gracias por ayudarme a ser un orgulloso universitario de nuestra casa de estudios, la UNAM, por la confianza mostrada, por la sabiduría que compartes sin ningún problema, por acompañarme y entrenarme en los caminos de la investigación y por ser un gran amigo. Gracias al Dr. Enrique Hong por sus consejos, sabiduría, confianza en mi juicio en la investigación y por no permitir que me desalentara en los momentos difíciles. Al Dr. Roberto Prado por su camaradería, enseñanzas y por acompañarme a compartir espacios con mis hermanos de sudamérica. Al Dr. Florencio Miranda por sus honestos comentarios de siempre, por la solidaridad en los momentos difíciles de ser estudiante, por ser un gran amigo que no duda en ningún momento para tenderte la mano. Al Dr. Alonso Fernández Güasti por la pulcritud en la revisión del presente trabajo, por sus comentarios siempre pertinentes y por ser un ejemplo a seguir en la investigación. Al Dr. Javier Nieto por su apoyo de siempre a los estudiantes. Finalmente agradezco de manera particular al Dr. Arturo Bouzas Riaño por ser un ejemplo de conocimientos y saber psicológico, por su amistad brindada y por los debates acerca de lo bien que juegan los pumas.

A mis amigos y camaradas de la psicología. Manuel (Mañoñis) porque sin ese primer semestre no estaría escribiendo nada en este momento. A Oscar Zamora (chostar) por que la cultura se puede transmitir de cualquier manera y con el chostar simplemente fluye. Cesar Casasola (el jefazo) por la honestidad que muestra cada día. A la Vero, Irma, Yola, la more, Felipe, etc. por los ríos de anécdotas que hemos compartido y por siempre echarnos porras. A Iván Trujillo por ser un excelente amigo y estudiante, porque se que algún día el alumno superará al maestro y cuando sea estaré ahí para aplaudir. A José Esquivelzeta porque demuestra que el psicólogo siempre va más allá. A Denisse por siempre esforzarte. A Alex por el respeto que siempre me has mostrado. A Pamela García porque una de mis estudiantes más listas esta haciendo lo que le gusta y no lo que le dicen. A todos mis alumnos de lo cuales siempre me he sorprendido por que cada clase me recuerdan mi inmundia ignorancia.

A mis colaboradores de laboratorio, Jessica, Elvia, Gaby, Diana, Ivan y demás camaradas que comparten el día a día de un laboratorio, el rata a rata de los experimentos y el artículo a artículo de los seminarios.

A mis abuelos Leonarda e Isaías por enseñarme que la vida esta ligada a nuestra tierra † †

A todos los que olvide pero que saben que les agradezco su influencia en mi vida.

Gracias a todos.

Hugo Sánchez Castillo

# ÍNDICE

|   |     |
|---|-----|
| ESTIMACIÓN TEMPORAL .....   | 3   |
| ESTIMACIÓN TEMPORAL EN SEGUNDOS .....                                     | 5   |
| ESTIMACIÓN TEMPORAL Y DOPAMINA .....                                      | 6   |
| SISTEMA DOPAMINÉRGICO.....  | 7   |
| MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS DE LA ESTIMACIÓN TEMPORAL.....                  | 16  |
| ESTIMACIÓN TEMPORAL Y SEROTONINA.....                                     | 21  |
| SISTEMA SEROTONÉRGICO .....   | 23  |
| MECANISMOS SEROTONÉRGICOS DE LA ESTIMACIÓN TEMPORAL .....                 | 44  |
| JUSTIFICACIÓN .....   | 46  |
| OBJETIVOS.....  | 48  |
| HIPÓTESIS.....  | 49  |
| MÉTODO .....  | 51  |
| SUJETOS.....  | 51  |
| MATERIALES.....   | 51  |
| FÁRMACOS.....   | 51  |
| PROCEDIMIENTO.....  | 54  |
| RESULTADOS.....   | 58  |
| RESULTADOS SISTEMA DOPAMINÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA .....      | 59  |
| RESULTADOS SISTEMA DOPAMINÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL RESTROSPECTIVA ..... | 72  |
| RESULTADOS SISTEMA SEROTONÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA .....      | 86  |
| RESULTADOS SISTEMA SEROTONÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL RETROSPECTIVA.....   | 91  |
| DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN .....  | 95  |
| SISTEMA DOPAMINÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA.....                  | 95  |
| SISTEMA DOPAMINÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL RESTROSPECTIVA .....            | 108 |
| SISTEMA SEROTONÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA.....                  | 120 |
| SISTEMA SEROTONÉRGICO ESTIMACIÓN TEMPORAL RESTROSPECTIVA .....            | 129 |
| REFERENCIAS.....  | 138 |

## Resumen

Se han descrito diversos sistemas de neurotransmisión capaces de alterar la percepción temporal en distintas especies, dentro de estos se han involucrado principalmente el sistema serotoninérgico y dopaminérgico. Sin embargo, hay resultados contradictorios acerca del papel de cada uno de estos sistemas principalmente cuando se evalúan en diferentes tareas de estimación temporal. El objetivo del presente estudio hacer una revisión acerca de la participación de los sistemas serotoninérgico y dopaminérgico en la estimación temporal y así poder evaluar el estado actual de estos mecanismos. Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un ciclo luz oscuridad 12-12 reducidas al 80% de su peso inicial. Los sujetos fueron entrenados en las diversas tareas de estimación temporal (procedimiento de pico, PI; bisección temporal, BT). Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA de medidas repetidas y comparaciones *a posteriori* con el test de Duncan. Se puede observar que el sistema dopaminérgico modula parcialmente los procesos de estimación temporal, sin embargo, la interacción con el sistema serotoninérgico parece jugar un papel importante en la percepción del tiempo en el rango de segundos a minutos.

## ESTIMACIÓN TEMPORAL.

En un sentido amplio, se entiende como estimación temporal a la capacidad que tiene los organismos de evaluar los intervalos de tiempo. Estos intervalos pueden cambiar su duración de forma inesperada por lo que se necesita un sistema capaz de adaptarse a los cambios constantes del medio, pero, lo suficientemente preciso para poder proporcionar al organismo una estimación confiable para que pueda hacer las estimaciones correctas que le permitan conducirse de forma acertada en un medio en constante cambio. Se ha encontrado que distintas especies son capaces de mostrar adaptaciones conductuales a eventos separados en el tiempo (Buhusi & Meck, 2000; Rakitin, 1998; Roberts & Boisvert, 1998), que van de segundos a unos pocos minutos. Esta prevalencia en muchas especies sugiere que la capacidad para detectar, aprender y usar información temporal es un proceso básico de la conducta y el aprendizaje.

La estimación temporal puede ser observada mediante varios tipos de programas de reforzamiento. Killeen & Fetterman (1988) desarrollaron una taxonomía de los programas de estimación temporal basados en la relación entre la respuesta en el tiempo que da el sujeto y el intervalo que transcurre, con base en la cual propusieron tres tipos diferentes de programas de estimación temporal (Killeen & Fetterman, 1988; Killeen & Weiss, 1987):

1. Programas de estimación temporal retrospectivos, en los que el sujeto es entrenado a emitir respuestas discriminativas dependiendo de la duración de un evento transcurrido antes de emitir la respuesta.
2. Programas de estimación temporal inmediata, en los cuales la conducta del sujeto se encuentra bajo el control del intervalo que en ese momento transcurre.
3. Programas de estimación temporal prospectiva, en los que el sujeto es entrenado a emitir respuestas discriminativas con base en intervalos que siguen a la respuesta emitida.

Estos programas permiten obtener ciertas medidas que permiten ver más claramente la conducta temporal del animal: una medida de tendencia central ( $T_{50}$ ) y una medida de variabilidad (el Limen). Esta ejecución de los organismos en materia de programas temporales conforma la ley de Weber; la cual se refleja en la fracción de Weber (una medida de la precisión relativa de la estimación temporal  $\text{limen}/T_{50}$ ), que permanece relativamente constante a lo largo de un amplio rango de intervalos de tiempo. La constancia en cuanto a la fracción de Weber implica que las funciones psicométricas, utilizando diferentes intervalos de tiempo, son sobrepuestas una con otra cuando la duración es reescalada de acuerdo al valor empírico de  $T_{50}$ . A esta característica se le conoce como la propiedad escalar de la estimación temporal (Church & Gibbon, 1982; Killeen & Weiss, 1987).



## ESTIMACIÓN TEMPORAL EN SEGUNDOS

Algunas de las aproximaciones más importantes para la estimación temporal en la escala de segundos a minutos son la Teoría de la Expectancia Escalar (SET) (Church, 1984; Gibbon, Church, & Meck, 1984); la Teoría Conductual de la Estimación Temporal (BeT) (Killeen & Fetterman, 1988) y la teoría del aprendizaje para el tiempo, (*Learning to Time*, LeT) (Machado & Keen, 1999).

De forma general SET está basada en tres procesos cognitivos; 1) un reloj; 2) memoria y 3) un proceso de comparación. Dentro de cada ensayo el acumulador recibe pulsos periódicos desde el marcapasos (reloj). El contenido del acumulador es comparado con una huella de eventos previos (memoria). El proceso de comparación determina cuando el tiempo transcurrido sobrepasa el criterio de duración, es decir, cuando la diferencia entre el tiempo transcurrido y el valor almacenado en la memoria excede el umbral del organismo y este puede optar por un estado de “no-respuesta” a un estado de “respuesta” (Church, 1984; Gibbon et al., 1984).

Con lo que respecta a BeT la conducta por si misma sirve como una clave para estimar el paso del tiempo y son mediadoras de la discriminación temporal (Killeen et al., 1988). El reforzamiento genera conductas adjuntivas y la frecuencia de estas aparece con diferentes tasas dentro del intervalo entre ensayos. Cada conducta se asume que se asocia con un estado y que, las transiciones entre estados son producidas por pulsos de un marcapasos. La velocidad del marcapasos depende de la tasa de reforzamiento entendiendo que si la tasa de reforzamiento incrementa, también incrementará la velocidad de los pulsos del marcapasos.

Finalmente LeT consiste en tres componentes principales: 1) una organización de estados conductuales en serie; 2) un vector de ligas asociativas conectando los estados conductuales con la respuesta instrumental; y 3) los estados conductuales por si mismos. Esta teoría asume que cuando inicia un evento que va a ser estimado sólo el primer estado está activo, pero, conforme el tiempo sigue transcurriendo, la activación de cada estado hace que se fluya hacia el siguiente estado en la serie. La activación de los estados varía directamente con la tasa total de reforzamiento en la situación. Cada estado conductual está acoplado a una respuesta instrumental y el grado de acoplamiento cambia en tiempo real, decreciendo durante la extinción e incrementado durante el reforzamiento. Finalmente, la fuerza de la respuesta instrumental es determinada al agregar los valores acoplados de cada estado, cada valor es evaluado por la activación de su estado correspondiente (Machado et al., 1999).

## ESTIMACIÓN TEMPORAL Y DOPAMINA.

Utilizando un procedimiento de pico para evaluar la estimación temporal inmediata se describió que en ratas la administración del agonista no selectivo  $D_{2-LIKE}$  meta-anfetamina producía una aceleración del hipotético “reloj”, lo cual se reflejaba en un corrimiento de los tiempos pico hacia la izquierda, sin producir cambios significativos en la amplitud del pico (Fracción de Weber) (Maricq, Roberts, & Church, 1981). Más tarde se confirmó que en pichones entrenados en el procedimiento de pico, con dosis de 0.5 a 1.5 mg/kg la meta-anfetamina produce un corrimiento a la izquierda de los tiempos pico (Buhusi & Meck, 2002), mientras que la administración del antagonista  $D_{2-LIKE}$  haloperidol tuvo el efecto opuesto, un desplazamiento de la función hacia la derecha en el procedimiento de pico (Buhusi & Meck, 2002; Maricq & Church, 1983; Meck, 1986). Estos hallazgos llevaron a Meck (1996) a sugerir que el hipotético “reloj” era, por lo menos, modulado por mecanismos dopaminérgicos.

# SISTEMA DOPAMINÉRGICO

La dopamina (DA) es un neurotransmisor del grupo de las catecolaminas. Estructuralmente hablando consta de un grupo amino, un núcleo catecol (un anillo de benceno con dos grupos hidroxilos adyacentes) y una cadena de etilamina o uno de sus derivados (Cooper et al., 2002). El precursor de la DA es un aminoácido llamado tirosina, el cual, por medio de dos reacciones se convierte en DA. La primera de ellas es dada por la enzima tirosina hidroxilasa (TH) la cual convierte la tirosina en L-3-4 Dihidroxifenilalanina (L-DOPA). En este punto la tirosina es considerada como la responsable de la tasa limitante. En segundo lugar se da la descarboxilación de la L-DOPA por medio de la L-d Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (AADC, por sus siglas en inglés) la cual finalmente produce la DA (Bloom et al., 1999). La DA constituye el 80% de las catecolaminas que se encuentran en el SNC. Son cuatro las principales proyecciones DAérgicas: 1) vía nigro-estriatal, 2) vía mesolímbica, 3) vía mesocortical y 4) vía tuberoinfundibular (Cooper et al. 2002). Las proyecciones de la vía nigro-estriatal se origina desde el cerebro medio en la sustancia nigra pars compacta (SNc) el cual inerva el núcleo estriado (caudado-putamen). Esta vía se ha descrito que participa en el control del movimiento y que su degeneración juega un papel importante en la enfermedad de Parkinson ya que produce temblores rigidez y akinesia (Mandel et al., 2003; Zhou, Chiang, & Wang, 1996). La vía mesocortical se origina desde el área ventral tegmental (AVT) y de ahí proyecta hacia la corteza. Se ha descrito que esta vía participa en los procesos de aprendizaje y memoria (Routtenberg, 1979). La vía mesolímbica se origina desde el AVT y proyecta hacia el núcleo accumbens, el tubérculo olfatorio y algunas zonas del sistema límbico. Ha sido relacionado con las conductas motivadas y adicciones (Adinoff, 2004; Kufahl et al.,

2005; Maldonado, 2003). La vía tuberoinfundibular se origina desde los núcleos paraventricular y arcuato del hipotálamo. Las proyecciones de esta vía permiten que la DA sea transportada a la pituitaria anterior y permite la inhibición de la hormona prolactina, la cual se encuentra relacionada con la secreción de leche y la conducta sexual (Petty, 1999; Schmitt et al., 1978).

## RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

La DA ejerce su efecto mediante la estimulación de receptores de siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G (Vallone, Picetti, & Borrelli, 2000). Cinco tipos distintos de receptores de DA han sido descritos y han sido agrupados en dos familias, D<sub>1</sub>-LIKE y D<sub>2</sub>-LIKE (Missale, Nash, Robinson, Jaber, & Caron, 1998), en base a sus propiedades bioquímicas y farmacológicas (Cooper et al. 2002). La familia D<sub>1</sub>-LIKE comprende los subtipos de receptores D<sub>1</sub> y D<sub>5</sub>, mientras que la familia D<sub>2</sub>-LIKE incluye a los subtipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub> (<http://www.iuphar-db.org>). Los fármacos existentes en la actualidad pueden diferenciar fácilmente de la familia D<sub>1</sub>-LIKE de la familia D<sub>2</sub>-LIKE, sin embargo, es difícil hallar un compuesto selectivo para un subtipo de receptor específico.

De los distintos tipos de receptores para la DA el subtipo de receptor D<sub>2</sub> fue el primero en aislarse. Debido a la secuencia de nucleótidos (1245) mostrada y a sus residuos proteicos (415) este receptor fue nombrado D<sub>2S</sub> (D2 corto). Posteriormente fue clonada una variante de este receptor en varias especies y fue nombrado como D<sub>2L</sub> (D2 Largo). El gen D2-R está compuesto por ocho exones de los cuales siete codifican (Guiramand, Montmayeur, Ceraline, Bhatia, & Borrelli, 1995;

Le & Bloch, 1991). El sexto exón muestra una forma alternativa ya que inserta 29 aminoácidos extra los cuales conforman la forma D2L del receptor.

El gen D3-R se compone de una proteína de 446 aminoácidos y fue clonada del cDNA obtenido del SNC de la rata (Livingstone, Strange, & Naylor, 1992; Sokoloff, Giros, Martres, Bouthenet, & Schwartz, 1990). Se han descrito algunas variantes de este tipo de receptor, sin embargo, se ha mostrado que no son funcionales (Giros, Martres, Pilon, Sokoloff, & Schwartz, 1991; Krebs et al., 1998).

El gen D4-R esta compuesto de cinco exones que codifican y generan una proteína de 387 aminoácidos en la rata y 419 en el humano. Se han logrado identificar algunas variantes de este tipo de receptor (Niznik & Van Tol, 1992), así como algunas de sus propiedades farmacológicas y moleculares (Oak, Oldenhof, & Van Tol, 2000). Finalmente el gen que codifica a los receptores D<sub>1</sub>-LIKE (D<sub>1</sub> y D<sub>5</sub>), a diferencia de la estructura genómica de los receptores D<sub>2</sub>-LIKE (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>), no contiene intrones (Nguyen et al., 1991; Sunahara et al., 1990; Weinshank et al., 1991). La expresión de los genes D1 y D2R esta ampliamente distribuida y mantiene una tasa muy alta. El gen D1R se expresa principalmente en el Caudado-Putamen, el tuberculo olfatorio, núcleo accumbens, corteza y amígdala (Missale, Nash, Robinson, Jaber, & Caron, 1998). Por su parte el gen para el receptor D5R tiene un patrón de expresión más limitado que el receptor D<sub>1</sub> ya que solo se ha reportado en el hipocampo, nucleo mamilolateral y núcleo parafascicular del tálamo (Missale, Nash, Robinson, Jaber, & Caron, 1998; Vallone, Picetti, & Borrelli, 2000).

La expresión del gen que codifica al receptor D2R se localiza principalmente en el caudado-putamen, tubérculo olfatorio y núcleo accumbens. Sin embargo también se localiza en la sustancia nigra pars compacta y el área ventral tegmental. Estas regiones corresponden a los lugares donde se originan las células dopaminérgicas y proyectan a diversas regiones del sistema nervioso central, por lo cual se infiere que estos receptores se encuentran preferencialmente en la presinapsis, a diferencia de los receptores D<sub>1-LIKE</sub> los cuales se han reportado postsinápticamente (Avginovich & Nikulina, 1992; Fox et al., 1993; Hall et al., 1994; Meador-Woodruff, Mansour, Civelli, & Watson, 1991; Vincent, Khan, & Benes, 1993). La distribución del gen D3R es aún más limitada, ya que se remite a la isla de la Calleja, algunos núcleos septales, tálamo, cerebelo y sustancia nigra. Se ha descrito que estos receptores son en mayoría postsinápticos (Levant, 1998). Finalmente el gen D4R se encuentra en la corteza frontal, amígdala, hipocampo, hipotálamo y mesencéfalo (Ariano, Wang, Noblett, Larson, & Sibley, 1997; Defagot & Antonelli, 1997; Matsumoto, Hidaka, Tada, Tasaki, & Yamaguchi, 1995).

Las vías de señalización de los receptores dopaminérgicos son principalmente los relacionados con la activación o inhibición de la vía del AMPc y la modulación de calcio (Griffon, Pilon, Sautel, Schwartz, & Sokoloff, 1997; Guiramand, Montmayeur, Ceraline, Bhatia, & Borrelli, 1995; Niu & Canlon, 2006; Yamashita & Isa, 2003). Los receptores D<sub>1</sub> se ha descrito que son reguladores positivos del AMPc. Esta activación resulta en la estimulación de la proteína cinasa A (PKA); ésta, a su vez, fosforila proteínas citoplasmáticas y nucleares, y regula el metabolismo celular incluyendo la función de los canales iónicos (Artalejo, Ariano, Perlman, & Fox, 1990), aunque también se ha propuesto que existen otro tipo de receptores D<sub>1</sub> que muestran un mecanismo relacionado con el

incremento de fosfoinositidos en el SNC (Undie, Weinstock, Sarau, & Friedman, 1994). Por otra parte los receptores D<sub>2-LIKE</sub> han sido descritos como inhibidores de la adenilato ciclasa (AC), sin embargo parece ser que dentro de la misma familia no todos los subtipos de receptores son igual de efectivos para la inhibición de la AC ya que los receptores D<sub>3</sub> parecen ser menos efectivos que los receptores D<sub>2</sub> (Griffon, Pilon, Sautel, Schwartz, & Sokoloff, 1997; Missale et al., 1998; Vallone et al., 2000; Wolf & Kapatos, 1989).

Se ha reportado que los receptores D<sub>1-LIKE</sub> son capaces de modular los niveles de potasio; de hecho se ha mostrado que son capaces de incrementar el flujo de potasio en las células de la retina del pollo, mientras que en la rata, inhibe el influjo de calcio en las neuronas estriatales (Missale et al., 1998; Vallone et al., 2000). Por su parte los receptores D<sub>2-LIKE</sub> se acoplan a proteínas G (Principalmente Gi) para modular diversos efectores (Cooper et al., 2002). Por ejemplo los receptores D<sub>2S</sub> y D<sub>2L</sub> pueden activar diferencialmente las corrientes de calcio, activando o inhibiendo, dependiendo del tipo de proteína G (Wolfe & Morris, 1999). Esta activación o inhibición de las corrientes de calcio ha sido descrito como un paso importante en la biosíntesis de la DA ya que estos receptores se encuentran localizados pre y postsinápticamente. En otras palabras, la TH (la principal enzima limitante de la síntesis de DA) depende de la activación de la proteincinasa dependiente de calcio calcio/calmodulina (Vallone et al., 2000; Wolfe et al., 1999).

Con lo que respecta a las funciones de los receptores dopaminérgicos, los efectos motores han sido de los más ampliamente descritos. Se ha mostrado que la degeneración de células dopaminérgicas y la disminución de la DA circundante esta asociado con el mal de Parkinson

(Cortes, Camps, Gueye, Probst, & Palacios, 1989; Costentin, 1995). Se ha mostrado también que tras la administración de agonistas y antagonistas dopaminérgicos se afectan conductas motoras como la locomoción (Ponzio et al., 1987; Sershen, Hashim, Harsing, & Lajtha, 1991; Treseder, Smith, & Jenner, 2000), olfateo y acicalamiento en ratas y ratones (Hoffman & Beninger, 1985; Molloy & Waddington, 1985; Starr & Starr, 1986). Generalmente los agonistas de la DA incrementan la cantidad de neurotransmisor e incrementa la actividad locomotora mientras que los antagonistas decrementan la DA y por ende decrementan la actividad locomotora. Sin embargo este esquema de acción depende de la dosis administrada ya que a dosis bajas los agonistas dopaminérgicos decrementan los niveles de DA debido a la activación de los receptores presinápticos (Lokhandwala & Steenberg, 1984; oit-Marand, Borrelli, & Gonon, 2001; Zharikova & Godukhin, 1985).

Se ha mostrado que la administración de bajas dosis de agonistas  $D_{2-LIKE}$  producen un decremento en la actividad locomotora, este efecto se debe a la estimulación presináptica lo que repercute en bajos niveles de DA y por lo tanto reducción locomotora (Ponzio et al., 1987b; Treseder, Smith, & Jenner, 2000). Por otro parte la administración de antagonistas con afinidad por los receptores  $D_{1-LIKE}$  (al igual que los antagonistas  $D_{2-LIKE}$ ) producen decrementos en la actividad locomotora (Le, Tomkins, Higgins, Quan, & Sellers, 1997). Cuando son administradas altas dosis de estos fármacos se produce catalepsia y los animales muestran una posición anormal por periodos de tiempo regulares (Puglisi-Allegra & Cabib, 1988; Verma & Kulkarni, 1992). Por otra parte la administración de agonistas  $D_{2-LIKE}$  y  $D_{1-LIKE}$  producen sinergismo ya que al administrar agonistas juntos se observa más intensidad en las respuestas registrada (como conductas estereotipadas) que al administrar un

solo fármaco (Wanibuchi & Usuda, 1990). Estudios recientes con ratones knock out han mostrado que la ausencia de los receptores D<sub>1-LIKE</sub> tiene efectos que aún no son muy claros sobre la conducta motora (Centonze et al., 2003; Dracheva & Haroutunian, 2001; Gomeza et al., 1999). Sin embargo estos hallazgos permitieron postular una interacción más compleja de los receptores DAérgicos en la regulación del movimiento voluntario, especialmente el subtipo de receptor D<sub>1</sub>. Por otra parte el knock out de los receptores D<sub>2</sub> produce marcados efectos motores en ratones, estos efectos principalmente son la reducción e incoordinación del movimiento así como la disminución en la conducta de olfateo (Aiba, 1999; Boulay, Depoortere, Perrault, Borrelli, & Sanger, 1999; Clifford et al., 2001; Nally et al., 2004). La manipulación de los genes que codifican a los receptores D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub> también muestran efectos motores, sin embargo, el knock out de los receptores D<sub>3</sub> trae consigo hiperlocomoción, lo que concuerda con estudios con agonistas (Khroyan, Fuchs, Baker, & Neisewander, 1997) y antagonistas (Boulay, Depoortere, Rostene, Perrault, & Sanger, 1999); mientras que la inactivación de los receptores D<sub>4</sub> produce reducción de la locomoción (Vallone et al., 2000).

Uno de los trastornos con los que más se ha relacionado el sistema de DA es el síndrome de déficit de atención con hiperactividad (SDAH), padecimiento que ataca principalmente a niños y que incluye incapacidad de poder mantener los procesos de atención sostenida y selectiva por periodos largos de tiempo así como hiperactividad y distracción (Biederman & Faraone, 2005; Pliszka, 2005; Viggiano, Ruocco, & Sadile, 2003). Se ha reportado que afecta del 8 al 12% de la población infantil mundial (Biederman & Faraone, 2005). Sin embargo, aunque el sistema de DA sea el sistema de neurotransmisión que más se relaciona, también tienen una participación importante los sistemas

noradrenérgico (Oades et al., 2005) y serotoninérgico (Curran, Purcell, Craig, Asherson, & Sham, 2005; Quist et al., 2000).

Se ha descrito que el polimorfismo en los genes que codifican para el receptor D<sub>4</sub> y el transportador de DA (DAT-1) están asociados con SDAH (Swanson et al., 1998; Todd et al., 2001). Generalmente el SDAH es tratado con fármacos psicoestimulantes como el metilfenidato o la d-anfetamina. El metilfenidato (ritalin) es un agonista indirecto que actúa sobre el transportador de DA y permite la liberación de neurotransmisor desde los sistemas vesiculares permitiendo mayor disponibilidad de neurotransmisor. La d-anfetamina produce incrementos en la disponibilidad de DA gracias a que invierte la función del sistema de recaptura; aunque estos fármacos en sujetos normales incrementa la actividad en pacientes con SDAH paradójicamente los regula y mantiene tranquilos.

# **MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS DE LA ESTIMACIÓN TEMPORAL.**

La descripción de la conducta temporal descrita por los diversos modelos conductuales a finales de los setenta y principios de los ochentas permitía inferir que existían mecanismos neurales que de alguna manera regulaban la percepción del tiempo, sin embargo, no fue sino en 1981 donde Maricq y sus colaboradores describen un experimento en donde a animales entrenados en procedimiento de pico se les administraba el agonista  $D_{2LIKE}$  meta-anfetamina y se observaba un decremento en el tiempo pico, por lo que propusieron que la meta-anfetamina incrementaba la velocidad del reloj (Maricq, Roberts, & Church, 1981a), dos años más tarde Maricq y Church describen otra experimento en el cual animales entrenados en el procedimiento de bisección temporal se les administraba meta-anfetamina y haloperidol. Los resultados de este experimento mostraron que las funciones psicométricas tras la administración de la meta-anfetamina se desplazaban hacia la izquierda mientras que el haloperidol las desplazaba hacia la derecha. Estos hallazgos llevaron a los investigadores a concluir que los niveles efectivos de dopamina podrían estar relacionados con la estimación temporal (Maricq & Church, 1983b). A raíz de estos hallazgos pioneros la teoría de la regulación dopaminérgica comenzó a tomar un papel fundamental en la explicación farmacológica y fisiológica de la estimación del tiempo en el rango de segundos a minutos (Buhusi & Meck, 2002; Malapani et al., 1998; Meck, 1996).

Como se ha descrito que los principales grupos neuronales del sistema dopaminérgico proyectan a estructuras telencefálicas (al caudado-putamen (CPu), núcleo accumbens (NAS), corteza prefrontal y orbitofrontal, hipocampo, amígdala, etc) a través del sistema mesocortical, mesolímbico

o nigroestriatal, se sugirió que la localización del supuesto marcapaso debería estar correlacionada con alguno de estos sitios. Específicamente, se sugirió (Meck, 1996a) al caudado-putamen como sitio probable donde se localiza el “reloj”. Sin embargo, a la fecha no hay evidencia concluyente de que en tal área existan neuronas con actividad intrínseca periódica, aunque se ha documentado que los pacientes con Enfermedad de Parkinson manifiestan irregularidades en la ejecución de tareas con requisitos temporales (Malapani et al., 1998b; Malapani, Deweer, & Gibbon, 2002; Malapani, Pillon, Dubois, & Agid, 1994). En animales se ha descrito que la inactivación a gran escala de la función dopaminérgica, mediante antagonistas dopaminérgicos o lesiones con neurotoxinas en el cerebro medio, trae consigo un síndrome conductual con algunas similitudes a la Enfermedad de Parkinson en el humano. Las ratas muestran akinesia, catalepsia e impedimento para ejecutar tareas que involucran estimación temporal entre eventos (Meck 1996).

A partir de las observaciones iniciales con metanfetamina y haloperidol, posteriormente se confirmó en algunos estudios la hipótesis dopaminérgica, por ejemplo, pichones entrenados en procedimiento de pico tras la administración del agonista indirecto  $D_2$  d-anfetamina (0.3 a 2.0 mg/kg) se produjo un corrimiento del Tiempos Pico hacia la izquierda (Kraemer, Randall, Dose, & Brown, 1997); también se ha observado que al administrar diferentes neurolepticos (clorpromazina, pimozida, promazina y espiroperidol) sólo aquellos que presentaron afinidad por la familia  $D_{2-LIKE}$  disminuyeron la velocidad del reloj. En su conjunto, estos hallazgos son congruentes con la hipótesis de que los agonistas directos o indirectos de la DA, particularmente el subtipo de receptores  $D_2$ , son los que se encuentran relacionados con la estimación temporal y producen una aceleración del hipotético “reloj” (Meck, 1996: Buhusi y Meck, 2002).

Sin embargo, otros autores no han podido confirmar la participación selectiva del receptor  $D_2$  ya que en ratas entrenadas en un procedimiento de bisección temporal con dosis de 0.5 mg/kg de meta-anfetamina administrada sc entre 20 y 100 min antes de la prueba se produjo una tendencia a responder como si el estímulo fuera corto (disminuyendo el máximo de respuestas ante el estímulo de 8 seg sin modificar las respuestas emitidas ante los estímulos de corta duración) provocando por tanto un incremento en la Fracción de Weber sin alterar significativamente el Punto de Bisección (Cevik, 2003); no obstante, en el mismo trabajo se menciona que cuando la meta-anfetamina se administró entre 100 y 180 min antes de la sesión los resultados fueron congruentes con los reportes iniciales (Maricq et al., 1983; Meck, 1986). Se debe considerar que la meta-anfetamina alcanza su máxima concentración plasmática alrededor de los 100 min y comienza a decaer después de los 180 min (Cook, 1991); sin embargo, en el trabajo realizado inicialmente (Maricq et al., 1983) la meta-anfetamina se administró 30 min antes de la sesión, que coincide con el rango de tiempo en el cual Cevick (2003) no observó el corrimiento a la izquierda sino una disminución del máximo de respuesta, por lo que el efecto observado con la administración antes de los 100 min pudiera deberse a diferencias en la vía de administración o a la sensibilidad de las diferentes cepas de animales a la meta-anfetamina. Otros autores también han encontrado inconsistencias con la administración de anfetamina y de algunos otros agonistas. Se ha reportado que en ratas entrenadas en un programa de reforzamiento diferencial de tasas bajas de respuesta (estimación inmediata) la d-anfetamina (0.5 a 1.5 mg/kg i.p.) no modifica ni el pico de la distribución de respuestas ni la Fracciones de Weber (Bayley, Bentley, & Dawson, 1998). En otra serie de experimentos se encontró que tras la administración de d-anfetamina se aplanaban las curvas

psicométricas sin mover los puntos de bisección hacia las duraciones cortas (Chiang et al., 2000a); estos hallazgos concuerdan con el efecto de dependencia de la tasa inducido por la d-anfetamina (Dews, 1977), sin embargo, no corresponden con la hipótesis de que los receptores  $D_2$  modulan el hipotético “reloj” (mueven los puntos de bisección hacia la izquierda).

Como se mencionó previamente, la sugerencia de que los mecanismos dopaminérgicos modulaban la velocidad del hipotético “reloj” se apoyó en la observación de que el haloperidol, antagonista  $D_{2-like}$  produce un desplazamiento a la derecha del Punto de Bisección sin modificar la pendiente (Fracción de Weber) de la función psicofísica (Maricq et al., 1983); el hallazgo original fue replicado posteriormente en ratas entrenadas en el procedimiento pico a las que se les administró dosis de haloperidol de 0.04 a 0.06 mg/kg ip 50 min antes de la sesión (Buhusi et al., 2002).

Por otra parte se ha reportado (Santi, Coppa, & Ross, 2001) que el agonista  $D_{2-like}$  quinpirola administrado a ratas en dosis de 0.02 a 0.08 mg/kg ip produce un incremento en el Punto de Bisección, aunque también se observa un decremento en las respuestas hacia los estímulos largos (disminuyendo por tanto el máximo de la curva psicofísica) y produciendo un incremento estadísticamente significativo en la Fracción de Weber (Santi, Coppa, & Ross, 2001). Estos resultados son consistentes ya que se debe recordar la presencia de receptores  $D_{2-LIKE}$  (Levant, 2003; Levant, Grigoriadis, & DeSouza, 1992) particularmente los  $D_3$  (Zuch & Cory-Slechta, 2001) en la membrana presináptica, cuya estimulación modula (inhibe) la liberación de dopamina. Precisamente, se ha descrito que la quinpirola en el rango de dosis de 0.03 a 0.3 mg/kg muestra mayor afinidad y actividad en los receptores presinápticos, por lo cual su administración en este

rango de dosis produce un efecto funcionalmente equivalente a la administración de haloperidol. Sin embargo, también existe un reporte contradictorio en el que se observó que la quinpirola administrada en ratas (la única dosis evaluada fue 0.01 mg/kg ip. 15 min antes de iniciar la sesión) se produce un corrimiento hacia la izquierda del Tiempos Pico (Frederick & Allen, 1996). Estos hallazgos muestran que posiblemente no haya un solo sistema neural implicado en la percepción temporal.

## **ESTIMACIÓN TEMPORAL Y SEROTONINA.**

Aunque se le ha dado un papel preponderante al sistema dopaminérgico en la regulación de la estimación temporal en el rango de segundos a minutos existe evidencia de la participación de otras sistemas tales como el colinérgico, el canabinoide y el serotoninérgico, sin embargo la cantidad de evidencia relacionada a los sistemas canabinoide y colinérgico es pobre y controversial (Altman, Appel, & McGowan, III, 1979; Crystal, Maxwell, & Hohmann, 2003; Meck & Church, 1987; Meck, Smith, & Williams, 1988; Meck & Williams, 1997; O'Leary et al., 2003) mientras que desde los estudios de Bizot y colaboradores donde la administración de antidepresivos (desipramina, clomipramina, maprotilina, indalpina, zimelidina, nialamida, clenbuterol) en animales entrenados en una tarea de elección en donde las opciones era un reforzador pequeño pero inmediato contra un reforzador grande demorado, encontrando que la administración de antidepresivos cambiaba la preferencia de reforzadores pequeños inmediatos por reforzadores grandes demorados, ha permitido inferir que el sistema serotoninérgico puede tener un papel importante en la regulación de la conducta temporal. Este estudio particular concluyo en que posiblemente el sistema serotoninérgico se encontraba asociado a la conducta impulsiva ya que parecía que los sujetos experimentales cambiaban una conducta impulsiva (seleccionar reforzadores pequeños inmediatos) a una conducta más regulada (seleccionar reforzadores largos demorados) (Bizot, Thiebot, Le, Soubrie, & Simon, 1988). Estos estudios permitieron a diversos grupos experimentar con neurotóxicas en el mismo paradigma encontrándose que los sujetos preferían los reforzadores pequeños pero inmediatos (Al-Zahrani et al., 1996b). En otra serie de experimentos se evaluo el efecto de diversos fármacos y se encontró que el antagonista 5-HT<sub>2</sub> DOI produce que los sujetos

elijan reforzadores pequeños pero inmediatos así como un incremento de las Fracciones de Weber en distintas preparaciones (Asgari et al., 2006; Body et al., 2003) mientras que el agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, reducía los picos de los tiempos entre respuestas en animales entrenados en una tarea de IRT's (Chiang et al., 2000b). Estos estudios permiten inferir que el sistema serotoninérgico podría estar regulando sus efectos mediante la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2</sub> o 5-HT<sub>1A/B</sub>. Finalmente en la actualidad se ha descrito que la administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> podría participar en la estimación temporal debido a que se ha mostrado que es capaz de modular la liberación de dopamina en los ganglios basales (Kurata et al., 1996; Matell & King, 1997; Schmidt & Black, 1989).

# SISTEMA SEROTONÉRGICO

En los últimos 20 años, con la aplicación de las técnicas de biología molecular el estudio del sistema serotonérgico se incremento y se ha observado un incremento significativo en el número de receptores descritos. Estos han sido agrupados en siete familias 5-HT<sub>1-7</sub> con un total de 14 subtipos de receptores en mamífero totalmente diferenciables farmacológica y estructuralmente (Hoyer et al., 1994). A nivel molecular se ha establecido que de forma general los receptores de la familia 5-HT tienen siete dominios transmembranales y se encuentran acoplados a proteínas G en los receptores metabotrópicos; sin embargo, la excepción a esta regla es el subtipo de receptor 5-HT<sub>3</sub> el cual se encuentra acoplado a canales iónicos y se conforma por cinco dominios transmembranales (Cooper et al., 2000).

## FAMILIA 5-HT<sub>1</sub>

La caracterización de esta familia se remonta a los trabajos pioneros de Peroutka y Snyder en 1979 donde en base a sus estudios con radioligandos describieron que en la corteza cerebral de la rata había gran afinidad a la [<sup>3</sup>H]5-HT y no a la espiperona (Peroutka y Snyder 1979). Estudios posteriores permitieron postular la existencia de tres subtipos de receptores, los 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1C</sub> (ahora <sub>2C</sub>); después aparecieron los 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>. La familia de los receptores 5-HT<sub>1</sub> tienen alta homología en cuanto a sus secuencias de aminoácidos y todos se acoplan negativamente a la adenilato ciclasa vía proteínas G (Barnes & Sharp, 1999). Las características generales de la farmacología de los receptores 5-HT<sub>1</sub> fue mostrada por Bradley et al en 1986

describiendo que tras la administración del agonista no selectivo 5-HT el efecto solo fue bloqueado por la metiotepina y la metisergida y no por antagonistas 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub> (Bradley et al., 1986). Posteriormente, la revisión de los receptores serotoninérgicos mostro cambios significativos al ser descritas las propiedades poco usuales de los receptores 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>, el movimiento de los receptores 5-HT<sub>1C</sub> a la familia de los receptores 5-HT<sub>2</sub> quedando finalmente como receptor 5-HT<sub>2C</sub> y el descubrimiento de más familias de receptores 5-HT<sub>4-7</sub> (Humphrey et al 1993; Hoyer et al 1994).

#### RECEPTOR 5-HT<sub>1A</sub>

Este subtipo de receptor es quizás uno de los más estudiados de la familia de la 5-HT. Se ha descrito que existen fármacos con alta afinidad por este subtipo de receptor, entre ellos el agonista selectivo 8-OHDPAT (ahora descrito como agonista con afinidad a los receptores 5-HT<sub>7</sub> también) (Gozlan et al 1983). Fue el primer receptor que se describió con su secuencia de aminoácidos completa y se encontró que el receptor de rata presentaba un 89% de homología con el receptor del primate humano y se ha descrito que se localiza en el cromosoma 5 (5q11.2-q13) (Barnes y Sharp 1999). La distribución del receptor 5-HT<sub>1A</sub> ha sido ampliamente descrita con los estudios de autoradiografía usando una gran gama de ligandos, [<sup>3</sup>H]-5-HT, [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT, [<sup>3</sup>H]-ipsapirona, [<sup>3</sup>H]-WAY 100635, etc. (Pazos y Palacios 1985; Weissmann-Nanopoulos et al 1985; Hoyer et al 1986; Verge et al 1986; Radja et al 1991; Khawaja 1995; Kung et al 1995). Estos receptores se encuentran altamente concentrados en áreas límbicas (hipocampo, septum lateral), áreas corticales (corteza del cíngulo, corteza entorhinal), en los núcleos del rafe (núcleo dorsal y medial). Por otra parte, los niveles de este receptor son apenas identificables en ganglios basales y cerebelo (Barnes y Sharp 1999). Este

patrón de distribución de receptores se mantiene constante a través de distintas especies con algunas leves diferencias en el primate humano (Burnet et al 1995). Éstos receptores se encuentran localizados postsinápticamente y presinápticamente (Radja, Daval, Hamon, & Verge, 1992).

Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se encuentran acoplados negativamente a la adenilato ciclasa por vía de proteínas G (Saito et al 1997; Weber et al 1997); sin embargo, un punto interesante es que aún cuando existe alta densidad de receptores 5-HT<sub>1A</sub> en el rafe dorsal no parece inhibir la adenilato ciclasa en esta región (Clarke et al 1996). La activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> permite la hiperpolarización producida por la apertura de los canales de K<sup>+</sup> a los cuales se encuentran acoplados las proteínas G de este subtipo de receptor (Hesen & Joels, 1996; Isomoto, Kondo, & Kurachi, 1997; Luscher, Jan, Stoffel, Malenka, & Nicoll, 1997).

Han sido descritos una gran cantidad de fármacos con afinidad por este subtipo de receptor; sin embargo, no cabe duda que algunos de los más importantes son el 8-OH-DPAT, dipropil-5-CT, y gepirona. Los antagonistas que han mostrado afinidad por este receptor incluyen al BMY 7378, NAN-190, MDL 73005 EF, SDZ 216525 los cuales fueron identificados con actividad en los receptores postsinápticos, sin embargo, estos fármacos también han mostrado actividad de agonistas parciales (Hjorth and Sharp, 1990; Sharp et al., 1990, 1993; Fletcher et al., 1993; Hoyer and Boddeke, 1993; Schoeffter et al., 1997), lo cual complica la investigación en este subtipo de receptor (ver tabla 1).

**Tabla 1**

| <b>Ligando</b> | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|----------------|---------------|---------------------|
| (+)-UH301      | Agonista      | Si                  |
| (-)-UH301      | Antagonista   | Si                  |

|                      |             |    |
|----------------------|-------------|----|
| (-)-pindolol         | Antagonista | No |
| (?)-WAY100635        | Antagonista | Si |
| 5-CT                 | Agonista    | No |
| 8-OH-DPAT            | Agonista    | Si |
| N,N-di-n-propyl-5-CT | Agonista    | No |
| NAD299               | Antagonista | Si |
| U92016A              | Agonista    | Si |
| spiperone            | Antagonista | No |

Tabla 1: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub>

Otro de los aspectos importantes acerca del funcionamiento de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> es que en regiones hipocámpales y del tallo cerebral los agonistas 5-HT<sub>1A</sub> inhiben por sí mismos el disparo de las neuronas serotoninérgicas (Casanovas, Hervas, & Artigas, 1999; Li, Perry, & Wong, 1999; Nakada, 2000). Estos hallazgos han sido comprobados por los estudios de microdialisis *in vivo* ya que se ha descrito que la administración de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> reduce los niveles de 5-HT en regiones del tallo cerebral, lo que se ha descrito como activación de los autoreceptores 5-HT<sub>1A</sub> de los núcleos del rafe (Andrews, Hogg, Gonzalez, & File, 1994; Davidson & Stamford, 1995a; Moret & Briley, 1997).

La activación del sistema serotoninérgico por medio de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> se ha correlacionado con incrementos en la liberación de acetilcolina (ACh) en hipocampo de rata y cerdo de guinea (Chung, Li, Dai, Meltzer, & Ichikawa, 2004; Giovannini et al., 1998; Katsu, 2001) probablemente debidos a la estimulación de receptores postsinápticos (Fujii, Nakai, Nakajima, & Kawashima, 2000; Nakai, Fujii, Fujimoto, Suzuki, & Kawashima, 1998). Así mismo, la activación de estos receptores por medio de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> (8-OH-DPAT, buspirona, etc) incrementa los niveles de noradrenalina en áreas del

hipotálamo, hipocampo, corteza frontal y área ventral tegmental (Astier et al., 2003; Hajos-Korcsok, McQuade, & Sharp, 1999; Suzuki et al., 1995).

Por otra parte se han descrito algunos otros efectos tras la administración de agonistas y antagonistas 5-HT<sub>1A</sub>: hiperfagia (Dourish, Cooper, Gilbert, Coughlan, & Iversen, 1988; Dourish, Hutson, Kennett, & Curzon, 1986; Hutson, Dourish, & Curzon, 1988), hipotermia (Hedlund et al., 2004; Knapp, Overstreet, & Crews, 1998), conducta sexual (Ahlenius, Larsson, & Arvidsson, 1989; Mendelson & Gorzalka, 1986; Rehman et al., 1999; Uphouse & Caldarola-Pastuszka, 1993), discriminación de drogas (Kleven, Assie, & Koek, 1997; Ramirez, Sanchez, Lopez, & Velazquez Martinez, 1998; Sanchez, Ramirez, Lopez, & Velazquez Martinez, 1998; Sanchez & Velazquez-Martinez, 2001; Schreiber, Brocco, Lefebvre de, Monneyron, & Millan, 1995; Velazquez-Martinez, Lopez, Sanchez, Ramirez, & Hong, 1999; Wolff & Leander, 1997).

## RECEPTORES 5HT<sub>1B</sub>

Este subtipo de receptor fue identificado tras los experimentos con fármacos como la espiperona y el 8-OH-DPAT y se encontró que la activación observada se debía a otro tipo de receptor diferente al 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2</sub> por lo cual se reclasificó y apareció el subtipo de receptor 5-HT<sub>1B</sub> (Hearing & Peroutka, 1987). Actualmente se reconoce que el subtipo de receptor 5-HT<sub>1D</sub> es una variante entre especies del subtipo 5-HT<sub>1B</sub> (Hartig, Hoyer, Humphrey, & Martin, 1996). Se ha descrito que se localiza en el cromosoma 9 (posición E) y cromosoma 6 (6q14) en humano (Sanders et al., 2001) y ratón (Simon-Chazottes, Cloez-Tayarani, Fillion, Guenet, & Fillion, 1993) respectivamente. Estos receptores se

encuentra altamente concentrados en sustancia nigra, globus palidus, palido ventral y núcleo entopeduncular (Bonaventure et al., 1999). Los estudios de hibridización *in situ* han demostrado que la localización del RNAm que codifica para el receptor 5-HT<sub>1B</sub> se encuentra en los núcleos del rafé dorsal y medial (Bonaventure et al 1999; Kaiyala, Vincow, Sexton, & Neumaier, 2003; Neumaier, Root, & Hamblin, 1996). Se ha descrito que se encuentran tanto presinápticamente como postsinápticamente; además, se ha especulado que en algunas regiones del SNC (sustancia nigra y globos palidus) los receptores se localizan en terminales no-serotonérgicas (Sari et al., 1997). Todos estos estudios permitieron concluir que estos receptores también funcionan como autoreceptores y heteroreceptores para controlar la liberación del neurotransmisor (Maura, Roccatagliata, & Raiteri, 1986; Sari, 2004b).

Farmacológicamente hablando el receptor 5-HT<sub>1B</sub> no tiene una gran cantidad de fármacos de alta selectividad a comparación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> (Hoyer et al., 1994), sin embargo, podemos mencionar al CP 94253, CGS 12066B y el CP 93129 como agonistas con alta selectividad por este subtipo de receptores. Algunos antagonistas con afinidad por este subtipo de receptores son el SB 224289, NAS-181 y el GR 55562 (tabla 2).

Tabla 2

| <b>Ligando</b>          | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|-------------------------|---------------|---------------------|
| (-)-pindolol (Roedores) | Antagonista   | No                  |
| CP93129 (Roedores)      | Agonista      | No                  |
| GR55562                 | Antagonista   | Si                  |
| L694247                 | Agonista      | No                  |
| NAS181(Roedores)        | Antagonista   | Si                  |
| SB224289                | Antagonista   | Si                  |

|                         |             |    |
|-------------------------|-------------|----|
| SB236057                | Antagonista | Si |
| cyanopindolol(Roedores) | Antagonista | No |
| metergolina             | Antagonista | No |
| Metiotepina             | Antagonista | No |
| sumatriptan             | Agonista    | No |

Tabla 2: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>1B</sub>

Debido a la poca disponibilidad de fármacos selectivos es necesario evaluar éstos receptores junto con algunos otros fármacos como los 5-HT<sub>1A</sub> a fin de descartar los efectos producidos por la estimulación de éstos últimos receptores. La investigación en discriminación de drogas es un buen ejemplo de cómo realizar las inferencias después de la administración de fármacos con distinta actividad biológica y así poder concluir si los efectos son debidos a un subtipo particular de receptores (Miranda, Hong, Sanchez, & Velazquez-Martinez, 2003; Sanchez & Velazquez-Martinez, 2001; Velazquez-Martinez, Lopez, Sanchez, Ramirez, & Hong, 1999).

Los estudios con células transfectadas con receptor 5-HT<sub>1B</sub> de roedor y de humano han mostrado que este subtipo de receptor se acopla negativamente a la adenilato ciclasa (Dickenson & Hill, 1995; Lin, Setya, Johnson-Farley, & Cowen, 2002). Actualmente se ha demostrado que los receptores 5-HT<sub>1B</sub> tienen funciones como autoreceptores en las terminales serotoninérgicas (Sari, 2004a) estos hallazgos han sido comprobados por estudios *in vitro* (Ahlgren et al., 2004; Hedo & Lopez-Garcia, 2002) e *in vivo* (Shalom, Gur, Van de Kar, & Newman, 2004; Stenfors & Ross, 2002). Esta función de autoreceptor permite regular la tasa de la liberación del neurotransmisor (Clark & Neumaier, 2001;

Davidson & Stamford, 1995b). Como heteroreceptores presinápticos se ha descrito que este subtipo de receptores es transportado hasta las terminales nerviosas para cumplir su función (por ejemplo funciones modulatorias en terminales no-serotonérgicas). Esta función fue sugerida a raíz de los estudios *in vitro* en hipocampo de rata donde se mostró una influencia inhibitoria en la liberación de ACh por medio de receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Sarhan & Fillion, 1999; Suhr et al., 1999). Con lo que respecta a otros sistemas de neurotransmisión se ha mostrado que pueden verse involucrados en la liberación de DA (Boulenguez et al., 1998; Yan & Yan, 2001) y en la regulación de la liberación del glutamato y GABA (Morikawa, Manzoni, Crabbe, & Williams, 2000).

La estimulación de este subtipo de receptor ha sido relacionada con efectos sobre los sistemas motores, particularmente se ha mostrado que tras la administración de agonistas 5-HT<sub>1B</sub> se produce hiperactividad (O'Neill, Fernandez, & Palacios, 1996). Sin embargo la estimulación de este subtipo de receptores también ha sido vinculada con otros procesos como la agresión (Olivier, 2005), ansiedad (Lesch, 2005), depresión (Mancilla-Diaz, Escartin-Perez, Lopez-Alonso, Floran-Garduno, & Romano-Camacho, 2005; Tatarczynska, ntkiewicz-Michaluk, Klodzinska, Stachowicz, & Chojnacka-Wojcik, 2005), ingesta (Mancilla-Diaz et al., 2005), conductas adictivas (Przegalinski, Papla, Siwanowicz, & Filip, 2004).

## RECEPTORES 5-HT<sub>2</sub>

La familia de receptores 5-HT<sub>2</sub> actualmente involucra tres subtipos de receptores, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>. Estos receptores presentan alta similitud en cuanto a su estructura molecular, farmacología y

señales de transducción (Baxter, Kennett, Blaney, & Blackburn, 1995a; Roth, Willins, Kristiansen, & Kroeze, 1998). La nomenclatura actual esta dada por los cambios que se dieron al reasignar los subtipos de receptores 5-HT<sub>D</sub> (originalmente designados así por Gaddum y Picarelli en 1957) en receptores 5-HT<sub>2A</sub>, el reconocimiento de los receptores 5-HT<sub>2LIKE</sub> en 5-HT<sub>2B</sub> y el acomodo de los originalmente llamados receptores 5-HT<sub>1C</sub> en 5-HT<sub>2C</sub> (Hoyer et al., 1994),

Las secuencias de aminoácidos de este subtipo de receptores tienen alto grado de homología; además, todos los receptores están formados por siete dominios transmembranales. Sin embargo, estructuralmente hablando son distintos a los demás subtipos de receptores (Roth, Willins, Kristiansen, & Kroeze, 1998). Una característica adicional para este subtipo de receptores es que los genes que los codifican solo tienen dos intrones (para los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2B</sub>) o tres (para los receptores 5-HT<sub>2C</sub>) en su secuencia (Barnes et al., 1999) y se acoplan preferencialmente a proteínas Gq para elevar la hidrólisis de fosfatos de inositol e incrementar el calcio citosólico (Hoyer, Hannon, & Martin, 2002).

## RECEPTORES 5-HT<sub>2A</sub>

Estos receptores fueron identificados en un inicio como análogos a los receptores 5-HT<sub>1C</sub> (en la vieja nomenclatura) debido a que presentaban farmacología similar, así también eran capaces de activar los mismos sistemas de segundos mensajeros; sin embargo, tras la nueva nomenclatura propuesta por Hoyer en 1994 se reconocen como un subtipo de receptor independiente (Hoyer et al., 1994c).

Los genes de humano que codifican este subtipo de receptor se encuentran localizados en el cromosoma 13q14-q21 y presentan alta homología con los receptores 5-HT<sub>2C</sub>, más no así con los receptores 5-HT<sub>2B</sub> (Holtje & Jendretzki, 1995).

Se ha descrito que estos receptores se encuentran localizados en la neocorteza, la corteza entorhinal, la corteza piriforme, claustrum, núcleo caudado, núcleo acumbens, tubérculo olfatorio e hipocampo (Hall, Farde, Halldin, Lundkvist, & Sedvall, 2000; Hamada et al., 1998; Lopez-Gimenez, Vilaro, Palacios, & Mengod, 2001). Evidencia adicional sugiere que este subtipo de receptores se encuentran localizados en interneuronas GABAérgicas (ver figura 1) (bi-Saab, Bubser, Roth, & Deutch, 1999; Willins, Deutch, & Roth, 1997).

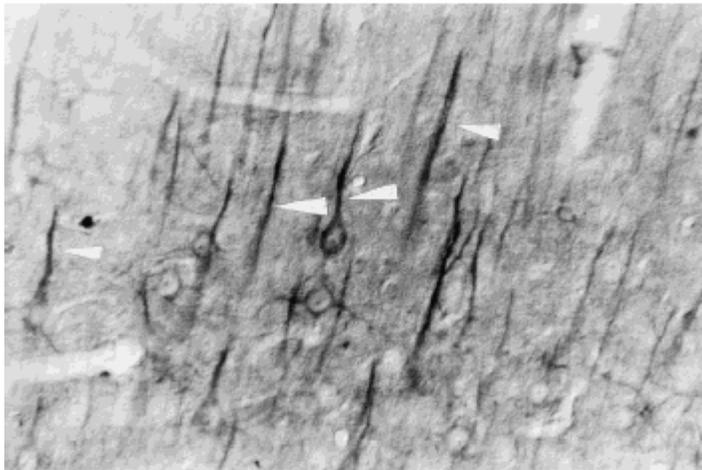


Figura 1: Inmunoreactividad obtenida de cortes de corteza cerebral de ratona para receptores 5-HT<sub>2A</sub>.

Por otra parte, se ha descrito que este subtipo de receptores presentan baja afinidad hacia la 5-HT y alta para el agonista DOI y sus análogos estructurales DOM y DOB. Los estudios con antagonistas han descrito diversos fármacos como la ritanserina y el IC 170809, pero actualmente existen algunos antagonistas que presentan alta afinidad, como el R-96544 (tabla 3).

Tabla 3.

| <b>Ligando</b>        | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|-----------------------|---------------|---------------------|
| (?) $\alpha$ -me-5-HT | Agonista      | No                  |
| (?)DOB                | Agonista      | No                  |
| (?)DOI                | Agonista      | No                  |
| LSD                   | Agonista      | No                  |
| R-96544               | Antagonista   | Si                  |
| Ritanserina           | Antagonista   | No                  |

Tabla 3: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>2A</sub>

Los tres subtipos de receptor se acoplan negativamente a la fosfolipasa C vía proteínas Gq e incrementan el inositol trifosfato y el Ca intracelular (Boess & Martin, 1994; Hoyer et al., 2002). Recientemente se ha descrito que la estimulación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> es capaz de producir la activación de varios genes entre los que destaca el del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (Vaidya, Marek, Aghajanian, & Duman, 1997; Vaidya, Terwilliger, & Duman, 1999). En los estudios de electrofisiología se ha descrito que la activación de los receptores 5-HT<sub>2</sub> resulta en activación de varias partes del SNC; sin embargo, aunque la alta homología entre estos receptores puede

confundir hacia que receptor se esta activando se cree que varias de estas respuestas son atribuibles a los receptores 5-HT<sub>2A</sub> (Frank et al., 1995; Matsumoto et al., 2005). Este tipo de estudios también han implicado la activación de este subtipo de receptores con la activación del sistema noradrenérgico en el locus coeruleus (Haddjeri, de, & Blier, 1997; Szabo & Blier, 2002). Conductualmente este subtipo de receptor ha sido implicado en una gran gama de conductas tales como ingesta de alimento (Herbeth et al., 2005); en movimiento libre (Ball & Rebec, 2005); agresión (Sakaue et al., 2002); agresión en la conducta maternal (de Almeida, Giovenardi, da Silva, de, V, & Stein, 2005); estimación temporal (Body et al., 2005); atención (Mirjana, Baviera, Invernizzi, & Balducci, 2004); reflejo palpebral (Harvey, Quinn, Liu, Aloyo, & Romano, 2004); conducta sexual (Brotto, Gorzalka, & Hanson, 1998); movimientos involuntarios de cabeza (Vickers et al., 2001); sacudidas de perro mojado (Van, Megens, Meert, Luyten, & Leysen, 2002); hipertermia (Salmi & Ahlenius, 1998); como estímulo discriminativo (Chojnacka-Wojcik & Klodzinska, 1997; Marona-Lewicka & Nichols, 1997); etc.

#### RECEPTOR 5-HT<sub>2B</sub>

Este subtipo de receptor originalmente fue clasificado como receptor 5-HT<sub>1LIKE</sub>; sin embargo, fue reclasificado a inicios de los noventas como 5-HT<sub>2F</sub> para finalmente quedar como receptor 5-HT<sub>2B</sub> a partir de 1993 (Humphrey, Hartig, & Hoyer, 1993). Este receptor ha sido descrito como una cadena de 481 aminoácidos y presenta cierto grado de homología con los receptores 5-HT<sub>2C</sub>, presenta dos intrones (a diferencia de los receptores 5-HT<sub>2C</sub>) y en el humano el gen que lo codifica se ubica en la

posición cromosomal 2q36.3-2q37.1 (Horton, Lubbert, & Houslay, 1996; Le, Choi, Maroteaux, Launay, & Berger, 1996).

La presencia de este receptor en el SNC ha sido poco concluyente debido a que la cantidad de RNAm (al menos en los estudios con roedores) es muy limitada (en comparación al de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>); sin embargo, se tiene una distribución de este subtipo de receptor principalmente en cerebelo, septum lateral, hipotálamo dorsal, asta dorsal y amígdala medial (Barnes et al., 1999; Baxter, Kennett, Blaney, & Blackburn, 1995b; Hoyer et al., 2002; Kursar, Nelson, Wainscott, & Baez, 1994; Nicholson, Small, Dixon, Spanswick, & Lee, 2003; Pompeiano, Palacios, & Mengod, 1994; Schmuck, Ullmer, Engels, & Lubbert, 1994).

El mecanismo de acción en este subtipo de receptor es la estimulación del sistema de fosfatidil inositol vía proteínas Gq, incrementando la entrada de Ca<sup>++</sup>. Actualmente existe una gran cantidad de fármacos que muestran afinidad por los receptores 5-HT<sub>2</sub> sin embargo la cantidad de fármacos selectivos a este subtipo de receptor es más limitada, entre estos podemos destacar al agonista BW 723C86 y al antagonista SB 204741 (tabla 4).

Tabla 4.

| <b>Ligando</b>              | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|-----------------------------|---------------|---------------------|
| (?) $\alpha$ -me-5-HT m-CPP | Agonista      | No                  |
| BW723C86                    | Agonista      | Si                  |
| RS127445                    | Antagonista   | Si                  |
| SB200646                    | Antagonista   | No                  |

|          |             |    |
|----------|-------------|----|
| SB204741 | Antagonista | Si |
| m-CPP    | Agonista    | No |

Tabla 4: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>2B</sub>

Los efectos conductuales observados tras la estimulación de este subtipo de receptores es muy variada ya que se ha descrito que tiene efectos sobre el sueño (Kantor, Jakus, Balogh, Benko, & Bagdy, 2004); ingesta de sodio (Castro et al., 2003); ansiedad (Duxon, Kennett, Lightowler, Blackburn, & Fone, 1997) e ingesta de alimento (Kennett, Ainsworth, Trail, & Blackburn, 1997).

#### RECEPTORES 5-HT<sub>2C</sub>

Este subtipo de receptor originalmente se encontraba contemplado dentro de la familia de receptores 5-HT<sub>1C</sub> debido a su alta afinidad por la [3H]5-HC. Sin embargo, una vez que el receptor fue clonado y descritas sus características se reubico en la familia de receptores 5-HT<sub>2</sub> (Barnes et al., 1999; Hoyer et al., 1994; Hoyer et al., 2002; Humphrey et al., 1993). Se encuentra asociado al cromosoma X en el humano, en el lugar Xq24 y en el ratón en el X D-X. El gen que codifica a este subtipo de receptor presenta tres intrones (a diferencia de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2B</sub>) (Stam et al., 1994). La distribución de este subtipo de receptores ha sido principalmente descrita en el SNC (a diferencia de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2B</sub> que se encuentran en cantidades mayores en la periferia). Estos estudios (principalmente de autoradiografía y de inmunohistoquímica) han utilizado una gran cantidad de ligandos entre los que destacan la [3H]5-HT, [3H]mesulergina y [3H]LSD y han arrojado un mapa detallado de la distribución de este subtipo de receptores en rata y algunas

otra especie (Adlersberg et al., 2000b; Clemett, Punhani, Duxon, Blackburn, & Fone, 2000; Palacios, Raurich, Mengod, Hurt, & Cortes, 1996). Se encuentran distribuidos principalmente en el plexo coroideo, núcleo olfatorio, corteza piriforme, cíngulo, retrospenio, núcleo accumbens, hipocampo, amígdala, núcleo caudado y sustancia nigra, (Abramowski, Rigo, Duc, Hoyer, & Staufenbiel, 1995; Adlersberg et al., 2000; Clemett et al., 2000; Mengod et al., 1996; Palacios et al., 1996; Pasqualetti, Ori, Marazziti, Castagna, & Nardi, 1998; Sharma, Punhani, & Fone, 1997). Aunado a esto, algunos estudios afirman que este subtipo de receptor se encuentra localizado postsinápticamente; sin embargo, aún no se ha descartado del todo la existencia de receptores presinápticos (Barnes et al., 1999). Aunque se han descrito actualmente fármacos con alta selectividad a este subtipo de receptores (como el agonista RO600175 y el antagonista RS102221), al igual que los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2B</sub> la gran mayoría de los fármacos disponibles son poco selectivos (tabla 5).

Tabla 5.

| <b>Ligando</b>        | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|-----------------------|---------------|---------------------|
| (?) $\alpha$ -me-5-HT | Agonista      | No                  |
| (?)DOB                | Agonista      | No                  |
| RS102221              | Antagonista   | Si                  |
| Ro600175              | Agonista      | Si                  |
| SB242084              | Antagonista   | Si                  |
| mesulergina           | Antagonista   | No                  |

Tabla 5: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>2C</sub>

La activación de este subtipo de receptores incrementa la actividad de la fosfolipasa C vía proteínas G (Berg, Clarke, Sailstad, Saltzman, & Maayani, 1994; Burns et al., 1997; Westphal, Backstrom, & Sanders-Bush, 1995). Electrofisiológicamente se ha mostrado que la administración de ketanserina y metisergida producen bloqueo de la excitación de las neuronas de la sustancia nigra estimuladas con 5-HT, sin embargo la administración de espiperona (agonista 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>) no produce efecto (Rick, Stanford, & Lacey, 1995); la activación de estos receptores se han involucrado parcialmente en la despolarización de neuronas en la corteza piriforme (Marek & Aghajanian, 1994). Conductualmente hablando el efecto que se ha observado es diverso ya que se han descrito cambios en conducta sexual (Wolf, Caldarola-Pastuszka, DeLashaw, & Uphouse, 1999); conductas obsesivas (Chou-Green, Holscher, Dallman, & Akana, 2003); ingesta de alcohol (Maurel, De, De, & Schreiber, 1999); ansiedad y discriminación de drogas (Gatch, 2003); ingesta de alimentos (Bickerdike, 2003; Fone, Austin, Topham, Kennett, & Punhani, 1998; Rice & Corwin, 2002) y locomoción (Yamauchi, Tatebayashi, Nagase, Kojima, & Imanishi, 2004).

### RECEPTORES 5-HT<sub>3</sub>

Originalmente, Gadum y Picarelli (1957) nombraron a este subtipo de receptor como M; sin embargo, gracias a las técnicas modernas que ayudan a la clasificación de receptores se concluyó que este subtipo de receptor, estructuralmente era más similar a los receptores GABA y nicotínicos (Hoyer et al., 2002). Esto significa que a nivel molecular este es un receptor acoplado a un canal

iónico que, al igual que la mayoría de los receptores acoplados a canales iónicos se trata de un pentámero (Boess, Beroukhim, & Martin, 1995; Peters et al., 2004; Spier & Lummis, 2002).

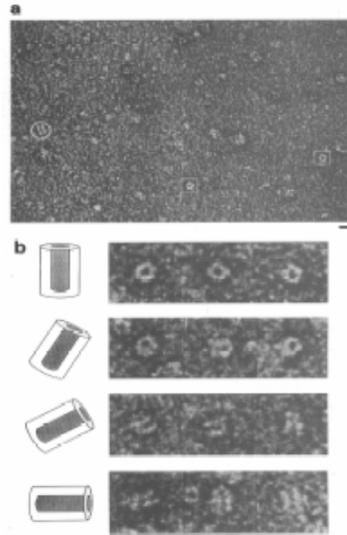


Figura 2: Microfotografía electrónica de canales asociados con el receptor 5-HT<sub>3</sub>.

Estos receptores han sido encontrados tanto central como periféricamente donde permiten una depolarización rápida debida a corrientes de entrada y la subsecuente apertura de canales de cationes (entrada de Na<sup>++</sup> y Ca<sup>++</sup> y salida de K<sup>+</sup>) (Hoyer et al., 2002). Se localiza en el cromosoma 11q23.1 – q23.2 (Uetz et al., 1994; Weiss, Mertz, Schrock, Koenen, & Rappold, 1995). Se encuentra distribuido en varias áreas del SNC, en el área CA1 del hipocampo, el núcleo motor dorsal del tracto solitario y en el área postrema; sin embargo, en el humano se han detectado estos receptores en otra áreas como el núcleo caudado y el putamen (Barnes et al., 1999; Hoyer et al., 2002). A principios de la década de los noventas se describió una variante del receptor, la subunidad 5-HT<sub>3A</sub>, la cual presenta una cadena de 487 aminoácidos y presenta alta identidad con la superfamilia de receptores ligados a canales iónicos (Maricq, Peterson, Brake, Myers, & Julius, 1991); años más tarde se describieron dos variantes (en células neuroblastoma-glioma) las cuales

presentaban distribución, características electrofisiológicas y farmacología similar (5-HT<sub>3B</sub> y 5-HT<sub>3C</sub>); sin embargo, aún no hay datos lo suficientemente concluyentes de su caracterización como subtipo de receptores 5-HT<sub>3</sub> (Davies et al., 1999; Hoyer, Schoeffter, Waeber, & Palacios, 1990; Morales & Wang, 2002).

Los estudios de hibridización *in situ* han descrito que la distribución de los receptores 5-HT<sub>3A</sub> concuerda con los estudios de autoradiografía; sin embargo, describen la localización de estos receptores en interneuronas dentro de la formación hipocampal indicando que el receptor 5-HT<sub>3</sub> puede estar mediando la inhibición indirecta de la células piramidales excitatorias vía la activación de interneuronas GABAérgicas (Passani, Pugliese, Azzurrini, & Corradetti, 1994; Puig, Santana, Celada, Mengod, & Artigas, 2004b).

La farmacología de este subtipo de receptor ha sido beneficiada por la existencia de varios fármacos (granisetron, tripisetron, ondansetron, etc.) que presentan alta afinidad por este tipo de receptor (tabla 6).

Tabla 6.

| <b>Ligando</b>        | <b>Acción</b> | <b>Selectividad</b> |
|-----------------------|---------------|---------------------|
| m-Clorofenilbiguanida | Agonista      | Si                  |
| $\alpha$ -Metil 5-HT  | Agonista      | No                  |
| SR 57227              | Agonista      | Si                  |
| Zacoprida             | Antagonista   | No                  |
| Tropisetron           | Antagonista   | Si                  |
| Ondansetron           | Antagonista   | Si                  |

Tabla 6: Fármacos con afinidad por los receptores 5-HT<sub>3</sub>

Muchos de los efectos de la activación de los receptores 5-HT<sub>3</sub> a nivel del SNC fueron descritos inicialmente en estudios conductuales, sin embargo, los estudios actuales de electrofisiología, biología molecular, etc, han permitido establecer que estos receptores participan principalmente en los procesos de ansiedad (Delgado et al., 2005), depresión (Bhatnagar, Nowak, Babich, & Bok, 2004), actividad locomotora (Shankar, Karan, Handu, & Bhargava, 2000), conducta sexual (Maswood, Caldarola-Pastuszka, & Uphouse, 1997), discriminación de drogas (De La, Callahan, & Cunningham, 1996), ingesta de alcohol (Dyr & Kostowski, 1995), aprendizaje y memoria (Carli, Luschi, & Samanin, 1997; Hong & Meneses, 1996). Aunado a esto se ha descrito que la estimulación de estos receptores participa en la liberación de otros sistemas tales como el GABAérgico (Puig, Santana, Celada, Mengod, & Artigas, 2004a; Turner, Mokler, & Luebke, 2004); el dopaminérgico (King, Xue, Calvi, & Ellinwood, Jr., 1995; Kriem, Rostain, & Abraini, 1995); el colinérgico (Consolo, Bertorelli, Russi, Zambelli, & Ladinsky, 1994) y la CCK (Aja, Barrett, & Gietzen, 1999; Hayes, Moore, Shah, & Covasa, 2004).

# **MECANISMOS SEROTONÉRGICOS EN LA ESTIMACIÓN TEMPORAL.**

Se ha descrito que la destrucción de las vías ascendentes serotoninérgicas por la inyección intra raquídea de la neurotoxina 5-7-Dihidroxitriptamina (5,7-DHT), promueve la elección de reforzadores más pequeños y próximos en tareas de elección intertemporal (Mobini, Chiang, Ho, Bradshaw, & Szabadi, 2000); impide la adquisición de la diferenciación temporal e interfiere con la diferenciación temporal ya adquirida en programas de intervalos entre respuestas mayores a un criterio temporal  $IRT > t$  (Wogar, Bradshaw, & Szabadi, 1992); afecta el área del pico más no el tiempo pico en tareas de PI (Morrissey, Ho, Wogar, Bradshaw, & Szabadi, 1994); incrementa el número de switches entre dos palancas en la tarea de operante libre, sin alterar el punto de indiferencia o la fracción de Weber (Al-Zahrani et al., 1996); en tareas de bisección temporal de 2s vs. 8s no se muestran déficit en la precisión de la discriminación, lo que se observó por la fracción de Weber, pero la curva psicofísica se desplaza hacia la izquierda (Ho et al., 1995).

Se ha mostrado que el tratamiento farmacológico con drogas que actúan sobre el sistema serotoninérgico afecta de alguna manera la estimación temporal. En experimentos de elección intertemporal se encontró que la d-fenfluramina promueve la elección de reforzadores más largos y demorados (Poulos, Parker, & Le, 1996). Por otra parte Bizot et al. (1988) mostraron que los inhibidores de la captura de serotonina tenían un efecto similar al de la d-fenfluramina; Evenden y Ryan (1999) hallaron que el agonista 5-HT<sub>2</sub> DOI incrementa la preferencia por reforzadores más pequeños e inmediatos y que los antagonistas a los subtipos de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub> no tenían efectos significativos sobre la elección. En experimentos de  $IRT > t$  el agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-

OH-DPAT aplicado directamente en los núcleos del rafé reduce el pico de la distribución de los tiempos entre respuestas (IRTs) e incrementa la variabilidad en un programa de IRT>20s (Fletcher, 1994). Estos últimos resultados son congruentes con la capacidad del 8-OH-DPAT de inhibir la función serotoninérgica por medio de autoreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub> en los núcleos del rafé (Cooper et al., 2000). En experimentos de operante libre se ha mostrado que el tratamiento con 8-OH-DPAT provoca un desplazamiento hacia la izquierda de forma dosis-dependiente en la función psicométrica; mientras que en la tarea de bisección temporal el 8-OH-DPAT incrementa la fracción de Weber sin modificar el punto de bisección (Chiang et al., 2000a).

## **JUSTIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS.**

El problema actual de la explicación de los mecanismos de la estimación temporal son los resultados contradictorios obtenidos por diversos grupos. Esta disparidad se ha propuesto que puede deberse a diferencias metodológicas como la cepa del animal, el entrenamiento, las condiciones de las cajas operantes, etc., aunado a esto la administración de fármacos por vías diversas sin contemplar cambios en los tiempos de administración, especie e incluso el vehículo utilizado puede ser otro de los factores por los que los resultados obtenidos con los mismos fármacos sean distintos. El presente estudio pretende bajo las mismas condiciones experimentales (condiciones en las cajas operantes y de administración) evaluar la ejecución de los sujetos en dos paradigmas temporales distintos (procedimiento de pico y bisección temporal). Por otra parte la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal aún no es clara acerca de que subtipo de receptor específico podría estar regulando la velocidad del reloj. Es por eso que en este estudio se pretendió evaluar la participación los distintos tipos de receptores dopaminérgicos en la estimación temporal mediante la administración de agonistas y antagonistas con afinidad a los distintos subtipos de receptores dopaminérgicos.

La evidencia actual indica que un sistema de neurotransmisión no opera de manera aislada ya que puede ser modulada la cantidad efectiva de neurotransmisión mediante la estimulación de algún otro sistema. Se ha mostrado que uno de los sistemas más relacionados con el sistema dopaminérgico es el serotoninérgico ya que se ha descrito que existe neuromodulación serotoninérgica sobre el sistema de DA, principalmente a través de los receptores 5-HT<sub>2</sub>. Con base en esta

evidencia, en el presente estudio se evalúan en primera instancia los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>1B</sub> debido a que la evidencia de participación de la serotonina y procesos cognitivos recae sobre este subtipo de receptor. Los subtipos de receptores 5-HT<sub>2C</sub> debido a que es el principal candidato para la neuromodulación dopaminérgica por receptores de serotonina y son los que más se han involucrado en la conducta temporal. Finalmente se decidió evaluar los receptores 5-HT<sub>3</sub> debido a la evidencia actual de la regulación de dopamina a través de estos receptores y a que son los únicos receptores acoplados a canales iónicos y no a proteínas G.

## **OBJETIVOS**

Objetivo (1): Evaluar agonistas dopaminérgicos con afinidad a los distintos subtipos de receptores dopaminérgicos a fin de determinar el subtipo de receptor específico que participa en los procesos de estimación temporal.

Objetivo (2): Evaluar antagonistas dopaminérgicos con afinidad a los distintos subtipos de receptores dopaminérgicos a fin de determinar el subtipo de receptor específico que participa en los procesos de estimación temporal.

Objetivo (3): Evaluar si los agonistas dopaminérgicos tienen un efecto diferencial sobre la ejecución de los sujetos dependiendo del tipo de estimación temporal del que se trate (retrospectiva o inmediata).

Objetivo (4): Evaluar si los antagonistas dopaminérgicos tienen un efecto diferencial sobre la ejecución de los sujetos dependiendo del tipo de estimación temporal del que se trate (retrospectiva o inmediata).

Objetivo (5): Evaluar agonistas serotoninérgicos con afinidad a los subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub> y 5-HT<sub>3</sub> a fin de determinar el subtipo de receptor específico que participa en los procesos de estimación temporal.

Objetivo (6): Evaluar si los agonistas serotoninérgicos tienen un efecto diferencial sobre la ejecución de los sujetos dependiendo del tipo de estimación temporal del que se trate (retrospectiva o inmediata).

## **HIPÓTESIS**

La hipótesis general a probar es si existe un subtipo de receptor dopaminérgico o serotoninérgico específico que participe en los procesos de estimación temporal.

Hipótesis (1): Si existe un mecanismo regulado mediante un receptor dopaminérgico específico que regule la estimación temporal entonces alguno de los diferentes agonistas dopaminérgicos podrá modificarlo.

Hipótesis (2): Si existe un mecanismo regulado mediante un receptor dopaminérgico específico que regule la estimación temporal entonces alguno de los diferentes antagonistas dopaminérgicos podrá modificarlo.

Hipótesis (3): Si el tipo de tarea (bisección temporal y pico) demanda procesos diferentes (retrospectivos e inmediatos), entonces la administración de agonistas dopaminérgicos influirá en las FW, puntos de bisección y tiempos pico de forma diferencial.

Hipótesis (4): Si el tipo de tarea (bisección temporal y pico) demanda procesos diferentes (retrospectivos e inmediatos), entonces la administración de antagonistas dopaminérgicos modificara las FW, los puntos de bisección y los tiempos pico de forma diferencial.

Hipótesis (5): Si existe un mecanismo regulado mediante un receptor serotoninérgico específico que regule la estimación temporal entonces alguno de los diferentes agonistas serotoninérgicos podrá modificarlo.

Hipótesis (6): Si el tipo de tarea (bisección temporal y pico) demanda procesos diferentes (retrospectivos e inmediatos), entonces la administración de agonistas serotoninérgicos influirá en las FW, puntos de bisección y tiempos pico de forma diferencial.

# MÉTODO.

## SUJETOS

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 250-300 g al inicio de los experimentos, ingenuas experimentalmente y alojadas en cajas-hogar individuales de policarbonato con un ciclo luz-oscuridad 12-12 horas. Durante los primeros 3 días tuvieron acceso *ad libitum* al agua y alimento, posteriormente se restringió el acceso al alimento hasta que los animales alcanzaron el 85% el peso corporal inicial.

## MATERIALES.

Se utilizaron cajas estándar de condicionamiento operante (Lafayette Instruments Inc. Sagamore Parkway North, IN, USA). Cada caja contaba con dos palancas retráctiles, situadas a 5 cm por arriba del piso y colocadas a ambos lados del dispensador de líquidos (Lafayette Instruments Inc. Sagamore Parkway North, IN, USA)Se el cual liberaba 0.5 ml de sucrosa como reforzador. Las cajas se colocaron en cubículos sonoamortiguados provistos con un ventilador que, junto con una bocina que emitía ruido blanco, enmascaraban los ruidos ambientales externos. Los eventos experimentales (luces y tonos y reforzadores) y las respuestas emitidas fueron controlados y registrados por una interface (Med Associates INC, Vermont, USA) y con un equipo de computo 486.

## FÁRMACOS.

Se administraron los siguientes fármacos relacionados con los receptores a la DA:

- D-Anfetamina (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Inhibidor de la monoamino oxidasa, agonista dopaminérgico con afinidad por los receptores D<sub>2-LIKE</sub> disuelto en solución

salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado intraperitonealmente (i.p.) en dosis de 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.

- Haloperidol (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Antagonista con afinidad por los receptores  $D_{2-LIKE}$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg con 20% de ácido acético para disolver, administrado i.p. 120 min antes de iniciar la sesión en dosis de 0.03, 0.1 y 0.3 mg/kg.
- Sulpirida (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Antagonista con afinidad por los receptores  $D_{2-LIKE}$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 10.0, 30.0 y 100.0 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.
- 7-hidroxi-dipropilaminotetralin, 7-OH-DPAT (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Agonista con afinidad por los receptores  $D_3$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 0.03, 0.1 y 0.3 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.
- PD 168077 (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Agonista con afinidad por los receptores  $D_4$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 0.03, 0.1 y 0.3 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.
- 6 Chloro PB (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Agonista con afinidad por los receptores  $D_{1-LIKE}$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.
- Quinpirola (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Antagonista con afinidad por los receptores  $D_{2-LIKE}$  disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 0.01, 0.03 y 0.1 mg/kg 30 min antes de iniciar la sesión.

Se administraron los siguientes fármacos relacionados con los receptores a la 5HT:

- R(+)-8-hidroxi-dipropilaminotetralin, 8-OH-DPAT (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA)  
Agonista con afinidad por los subtipos de receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>7</sub> disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado intraperitonealmente (i.p.) en dosis de 0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg 15 m antes de iniciar la sesión.
- 1-(3clorofenil)piperazina, mCPP (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Agonista con afinidad por los receptores 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>1B</sub>, metabolito de la trazodona, disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg 30 m antes de iniciar la sesión.
- 1-m-Clorofenil Biguanida, mCPBG (SIGMA Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA). Agonista con afinidad por los receptores 5-HT<sub>3</sub> disuelto en solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 1.0 ml/kg administrado i.p. en dosis de 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg 30 m antes de iniciar la sesión.

## **PROCEDIMIENTO.**

Procedimiento General: Todos los sujetos fueron entrenados mediante el procedimiento de aproximaciones sucesivas a responder presionando los operandos para obtener reforzador. Una vez adquirida la conducta de palanqueo fueron entrenados en razón progresiva hasta llegar a razón fija tres. Una vez entrenados en razón fija tres los sujetos fueron distribuidos en los grupos de procedimiento de bisección y procedimiento de pico.

*Procedimiento de Bisección Temporal:*

Entrenamiento: Se entreno a los sujetos a responder diferencialmente ante dos duraciones de un estímulo luminoso, uno "corto" (2 s) y uno "largo" (8 s). Cada ensayo era seguido por un intervalo entre-ensayos de duración pseudoaleatoria (5, 10 o 15 seg). Las sesiones tenían una duración de 30 min. En las sesiones de entrenamiento los ensayos "cortos" y "largos" eran presentados de forma pseudoaleatoria (como criterio no más de tres ensayos de una misma duración) en una proporción de 50/50. Este entrenamiento se mantenía hasta que los sujetos presentaran un porcentaje de aciertos por arriba del 80% durante cinco sesiones consecutivas. Las sesiones fueron realizadas seis días a la semana de lunes a sábado.

Sesiones prueba: Una vez que los sujetos presentaban un porcentaje de respuestas correctas por arriba del 80% fueron introducidas las sesiones prueba en donde eran intercalados ensayos donde los estímulos luminosos tenían duraciones intermedias (2.5, 3.2, 4, 5 y 6.2 seg) y el reforzador era omitido mientras que se mantenían las demás condiciones en la caja operante. La proporción de los ensayos de duraciones intermedias fue de 20 intermedias/80 duraciones de entrenamiento (40 de 2 seg y 40 de 8 seg), las sesiones prueba se presentaban tres veces a la semana de manera intercalada con sesiones normales de entrenamiento para evitar el reajuste del reloj.

Evaluación Farmacológica: Una vez que los sujetos terminaban las sesiones prueba se procedía a la aplicación de los diversos fármacos serotoninérgicos y dopaminérgicos. Los fármacos

eran administrados dos veces por semana intercaladas con sesiones de vehículo y de entrenamiento para evitar el reajuste del reloj.

*Procedimiento de Pico:*

Entrenamiento: En esta tarea se entrenó a los sujetos a responder en un programa de Intervalo Fijo (FI30s). Esta condición se mantuvo hasta que se observó el festón característico de este tipo de programas en el cual se observa tasas bajas de respuesta al inicio del intervalo y conforme se acerca la entrega del reforzador la tasa se incrementa (patrón break and run) (Skinner & Morse, 1957). Cada ensayo era precedido por un intervalo entre-ensayos de duración pseudo aleatoria (5, 10 y 15 seg). Las sesiones tenían una duración de 60 min y fueron realizadas seis días a la semana exceptuando los domingos.

Sesiones pico: Una vez que todos los sujetos presentaban la conducta de festoneo se procedió a introducir los ensayos pico en donde el intervalo fue extendido (120 seg) y el reforzador fue omitido mientras se conservaban las demás condiciones de la caja operante. La proporción de los ensayos pico fue de 50/50 respecto a los ensayos normales de IF30 seg. El entrenamiento en las sesiones pico se prolongo hasta que los sujetos mostraron una tasa de respuesta que se asemeja a una campana de distribución normal.

Sesiones Prueba: Una vez que apareció la curva de distribución normal en los ensayos pico las curvas obtenidas fueron analizadas con una función para campana de Gaus de tres parámetros

(ver análisis de resultados) con el programa Sigma Plot 9 for windows. De esta normalización se obtuvieron la media de la tasa de respuesta y el ancho de la curva. Parámetros que si se mantenían constantes en por lo menos cinco sesiones se procedía a las sesiones de evaluación farmacológica.

Evaluación Farmacológica: Una vez que los sujetos terminaban las sesiones prueba se procedía a la aplicación de los diversos fármacos serotoninérgicos y dopaminérgicos. Los fármacos eran administrados dos veces por semana intercaladas con sesiones de vehículo y de entrenamiento para evitar el reajuste del reloj.

#### Análisis de Resultados:

Los resultados obtenidos para ambas pruebas fueron normalizados con el programa Sigma Plot 9 for Windows. Para el procedimiento de bisección temporal se aplicó la función sigmoide de dos parámetros  $f = \frac{a}{1 + (x/b)^c}$  donde a es igual a 100 (máximo posible de respuesta) b es el punto de bisección y c corresponde al limen; de estas dos últimas medidas se calculó la fracción de Weber. Para el Procedimiento de Pico se aplicó la función para la forma de campana de Gauss de tres parámetros ( $f = a \cdot \exp(-.5 \cdot ((x-x_0)/b)^2)$ ) con la cual se extrajo el tiempo pico, la tasa pico y la fracción de Weber. Una vez obtenidas las diferentes medidas fueron comparados con un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (las comparaciones siempre se realizaron entre las condiciones control y vehículo y los diferentes niveles de dosis de cada fármaco evaluado) con el paquete

estadístico STATISTICA for Windows 5.1. Los resultados significativos fueron evaluados con la prueba *post hoc* de Duncan.

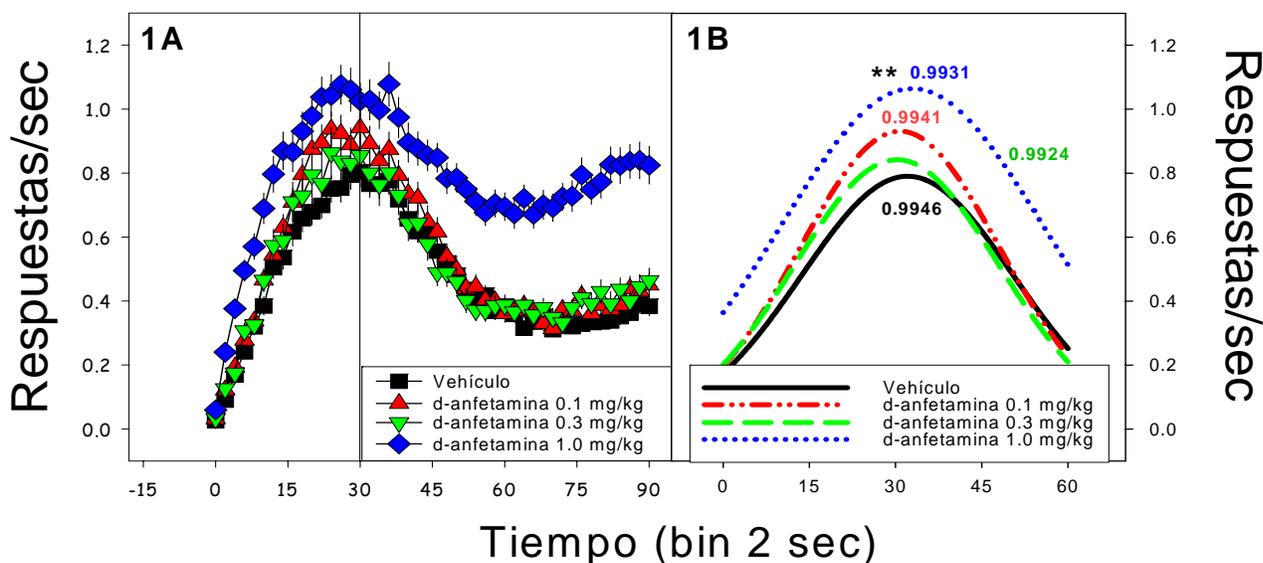
# RESULTADOS

Para una mejor claridad en cuanto a los hallazgos encontrados, los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron ordenados por sistemas de neurotransmisión iniciando con el sistema dopaminérgico y finalmente con el sistema serotoninérgico. Dentro de cada sistema de neurotransmisión se ordeno por tarea y por afinidad del fármaco, en el caso de la tarea se inicio siempre con procedimiento de pico (estimación temporal inmediata) y posteriormente con bisección temporal (estimación temporal retrospectiva). Los fármacos fueron administrados siguiendo la afinidad a cada subtipo de receptor. Para todos los fármacos evaluados en el procedimiento de pico se presentan en una figura la tasa de respuesta en Bin de 2 segundos del lado izquierdo, del lado derecho se presenta la normalización de las curvas. Mientras que en una figura diferente se presentan el tiempo pico en la parte superior y la Fracción de Weber en la parte inferior de cada figura. Finalmente para todos los fármacos evaluados en el procedimiento de bisección temporal se presentan en una figura las funciones psicométricas obtenidas. Mientras que en una figura diferente se presentan los puntos de bisección en la parte superior y la Fracción de Weber en la parte inferior de cada figura.

# RESULTADOS SISTEMA DOPAMINÉRGICO

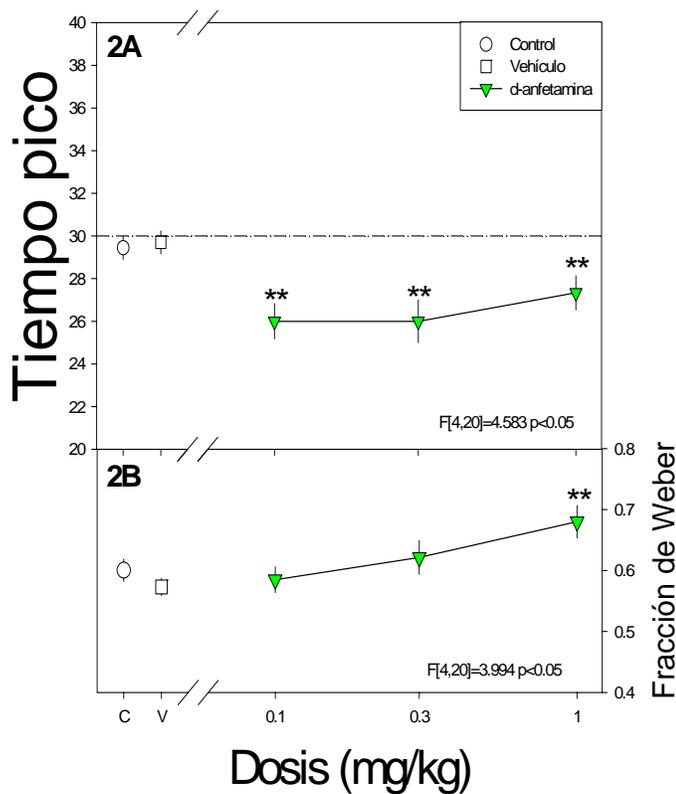
## ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA

La gráfica 1 muestra que tras la administración del agonista dopaminérgico D<sub>2</sub>, d-anfetamina, se pudo observar el efecto del incremento en la tasa de respuestas reportado en investigaciones anteriores (Dews, 1977) (gráfica 1A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos ( $F_{[4,20]}1.634$   $p < 0,05$ ), la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros y el análisis *a posteriori* revelaron que solo la ejecución bajo la dosis de 1.0 mg/kg resultó diferente con respecto a las condiciones control (gráfica 1B),



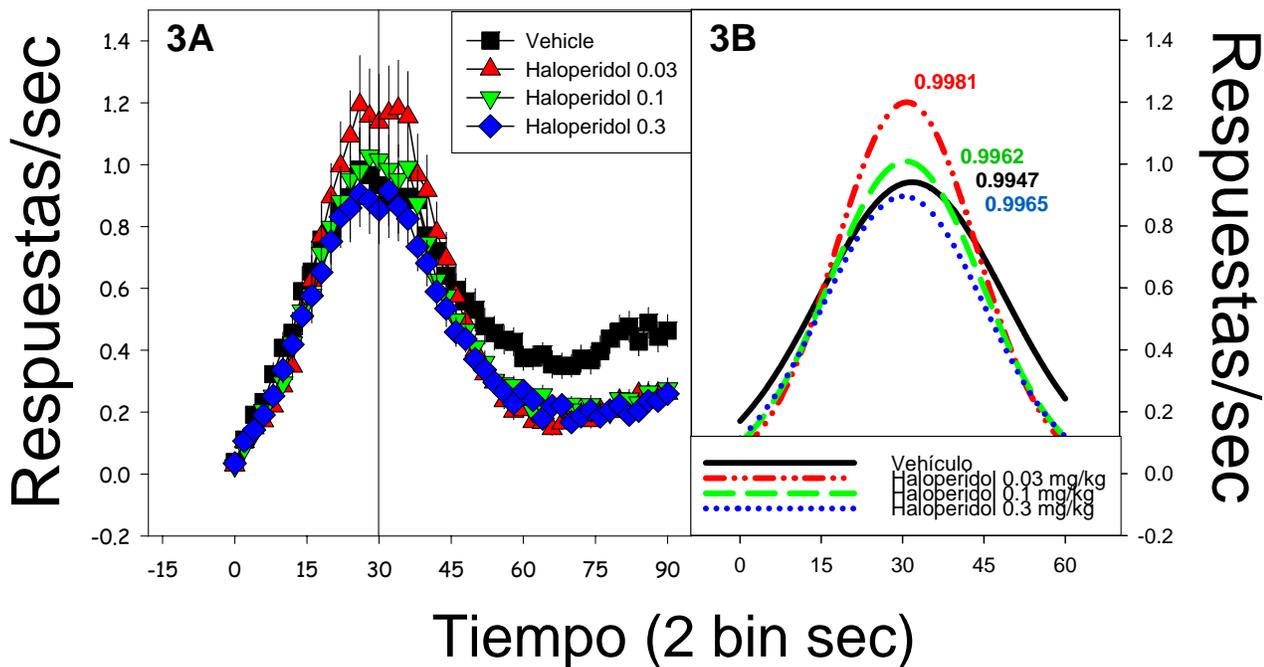
Gráfica 1: Efecto del agonista dopaminérgico d-anfetamina sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 1A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de d-anfetamina. La gráfica 1B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x_0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

En la gráfica 2 se observan los tiempos pico obtenidos de la ejecución de los sujetos. El ANOVA mostró diferencias significativas,  $F_{[4,20]}=4.583$   $p < 0.05$  entre los distintos grupos y el análisis *a posteriori* reveló que todas las dosis empleadas fueron diferentes con respecto a las condiciones control. Sin embargo hay que hacer notar que éste efecto no fue dosis dependiente (gráfica 2A), además se puede observar un incremento significativo en las Fracciones de Weber obtenidas de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=3.994$   $p < 0.05$  aunque el análisis *a posteriori* reveló que solo fue con la dosis de 1.0 mg/kg (Gráfica 2B).



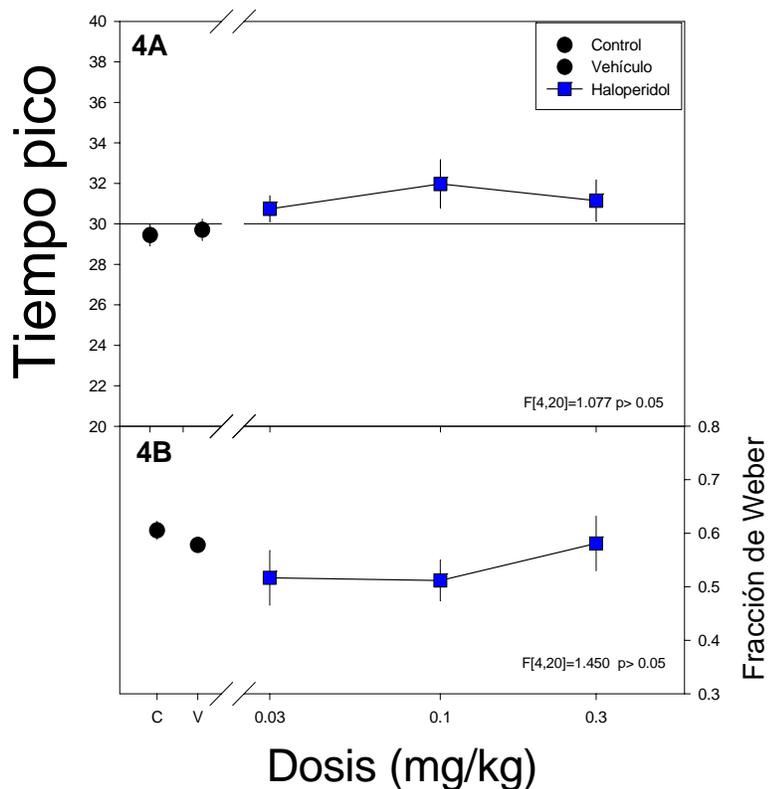
**Gráfica 2: Efecto del agonista dopaminérgico d-anfetamina sobre los tiempos pico y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de d-anfetamina. En la parte superior de la figura (2A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (2B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 3 muestra que tras la administración del antagonista  $D_{2\text{LIKE}}$  haloperidol, se pudo observar un decremento en las tasas de respuesta (gráfica 3A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]}1.777$   $p > 0,05$ ), la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que aunque la dosis de 0,03 mg/kg incremento la tasa de respuestas este resultado no es estadísticamente significativo (gráfica 3B),



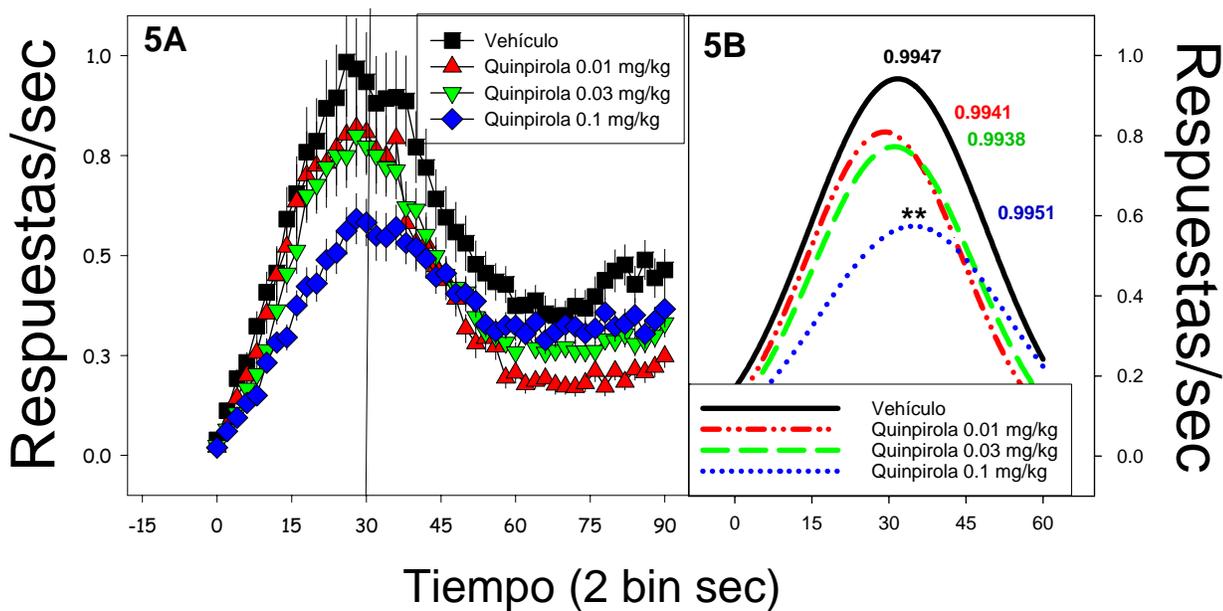
Gráfica 3: Efecto del antagonista dopaminérgico haloperidol sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 3A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de haloperidol. La gráfica 3B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x0)/b)^2$ ) y la  $r$  de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

En la gráfica 4 se observan los tiempos pico obtenidos de la ejecución de los sujetos tras la administración del antagonista  $D_{2\text{LIKE}}$  haloperidol. El ANOVA de una vía mostró que, aunque visualmente se aprecia un incremento en los tiempos pico, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=1.077$   $p > 0.05$  (gráfica 4A); por otra parte también se encontró que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber de las distintas dosis de haloperidol tras compararlos con las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.450$   $p > 0.05$  (gráfica 4B).



**Gráfica 4: Efecto del antagonista dopaminérgico haloperidol sobre los tiempos pico y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de haloperidol. En la parte superior de la figura (4A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (4B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

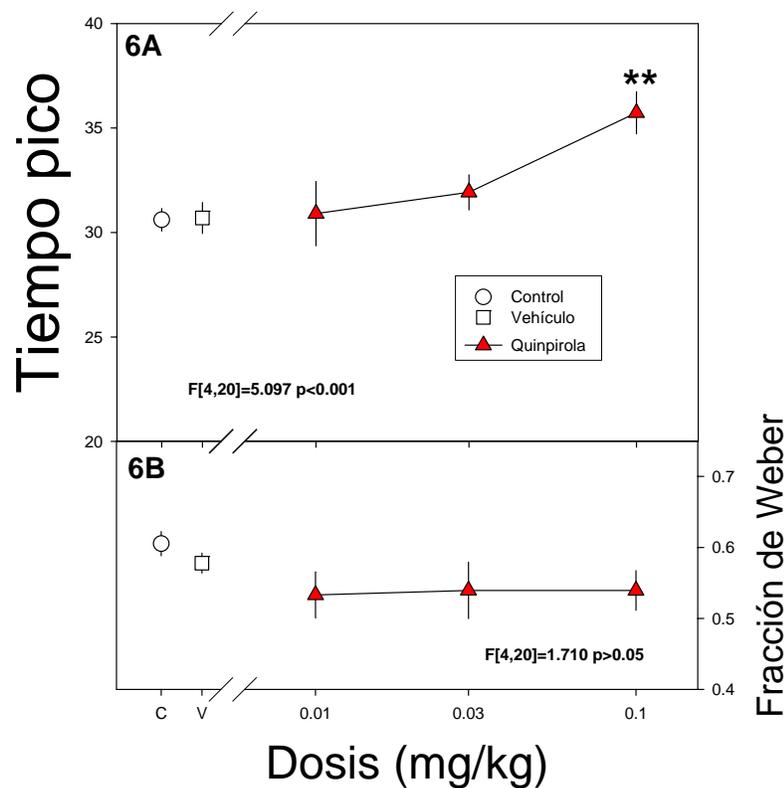
La gráfica 5 muestra que tras la administración del agonista D<sub>2</sub> quinpirola, se pudo observar un decremento en las tasas de respuesta obtenidas de la ejecución de los sujetos (gráfica 5A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en las tasas de respuestas de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]}=2.784$   $p < 0,05$ ), la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros y el análisis *a posteriori* permiten observar que solo la dosis de 0,1 mg/kg decrementó la tasa de respuestas de forma significativa (gráfica 5B).



**Gráfica 5: Efecto del agonista dopaminérgico quinpirola sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 5A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de quinpirola. La gráfica 5B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x0)/b)^2$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).**

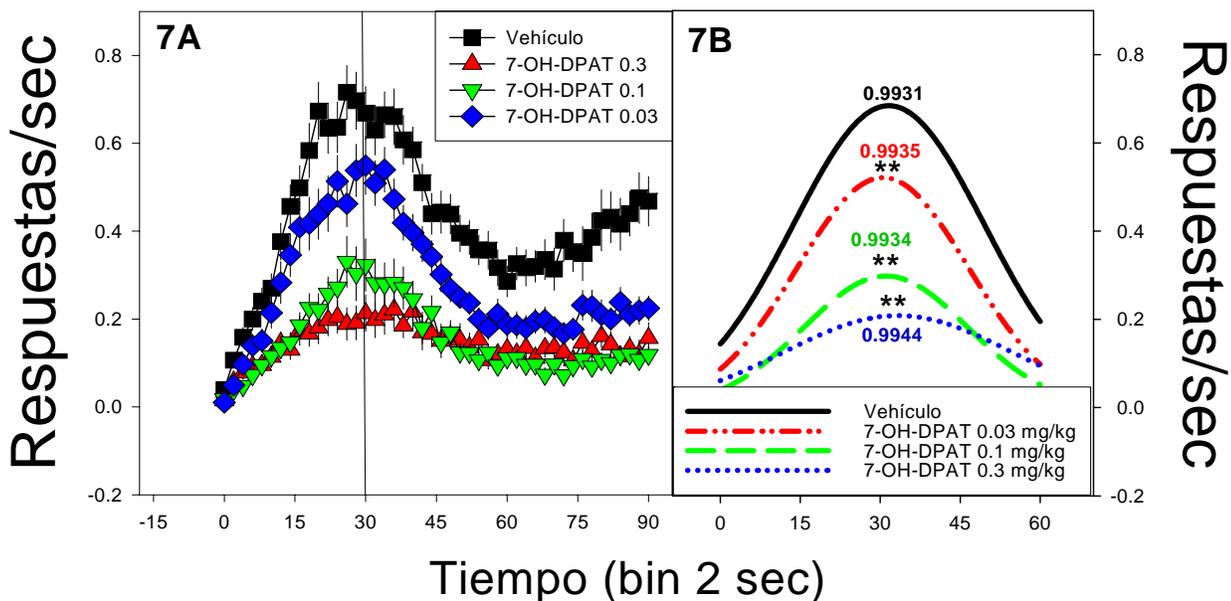
En la gráfica 6 se observan los tiempos pico obtenidos de la ejecución de los sujetos tras la administración del agonista D<sub>2</sub> quinpirola. El ANOVA mostró que el incremento dosis dependiente

que se observa en los tiempos pico presenta diferencias estadísticamente significativas,  $F_{[4,20]}=5.097$   $p < 0.05$  entre los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control (gráfica 6A); sin embargo las comparaciones *a posteriori* revelaron que solo la dosis de 0.1 mg/kg resultó diferente de las condiciones control controles. Por otra parte se encontró que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber con las distintas dosis de quinpirola tras compararlos con las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.171$   $p > 0.05$  (gráfica 6B).



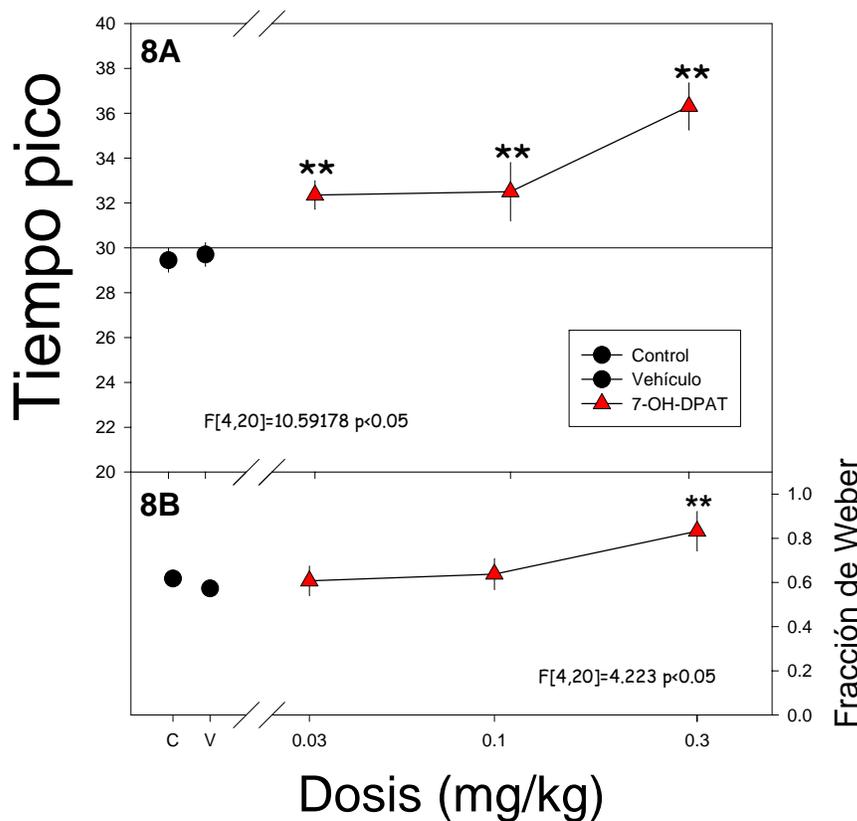
**Gráfica 6: Efecto del agonista dopaminérgico quinpirola sobre los tiempos pico y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de quinpirola. En la parte superior de la figura (6A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (6B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

La gráfica 7 muestra que tras la administración del agonista D<sub>3</sub> 7-OH-DPAT, se pudo observar un decremento en las tasas de respuesta obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 7A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]}=56.827$   $p < 0,05$ ), la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros y el análisis *a posteriori* permiten observar que todas las dosis evaluadas decrementaron la tasa de respuestas de forma significativa (gráfica 7B),



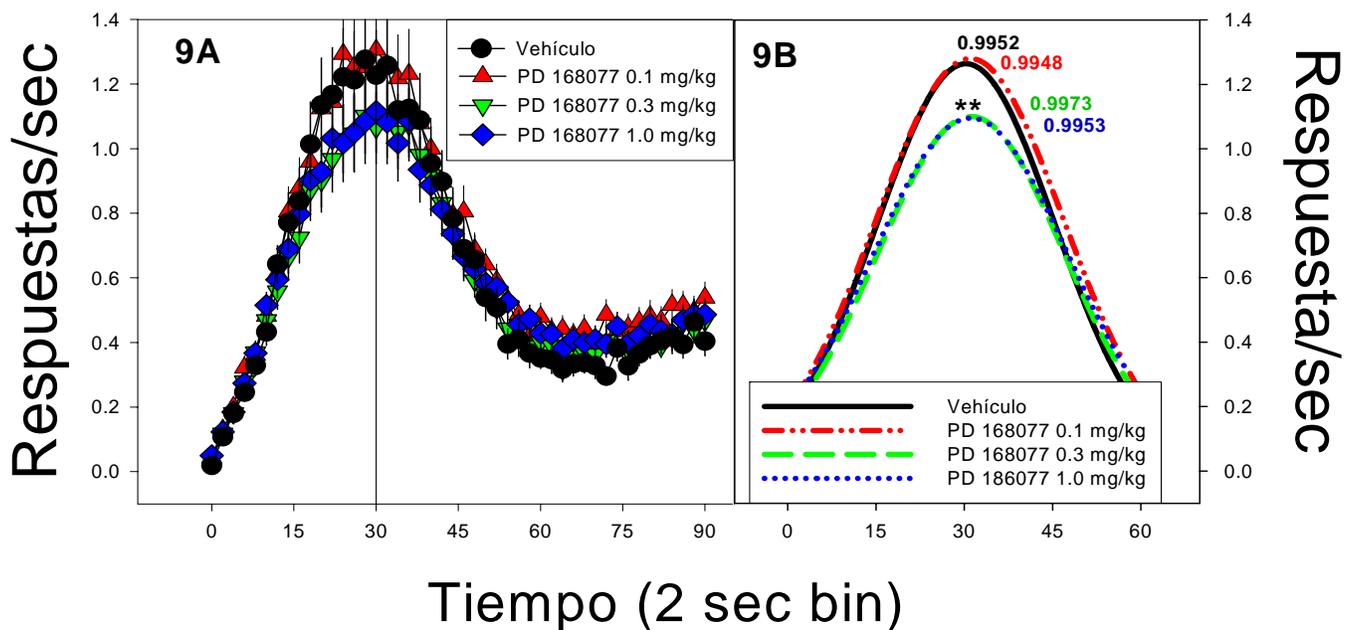
**Gráfica 7: Efecto del agonista dopaminérgico 7-OH-DPAT sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 7A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de 7-OH-DPAT. La gráfica 7B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x_0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).**

Al evaluar los tiempos pico tras la administración del agonista D<sub>3</sub> 7-OH-DPAT mediante el análisis de varianza de una vía, ANOVA, se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=10.591$   $p < 0.05$ , el análisis *a posteriori* reveló que todas las dosis empleadas fueron diferentes de las condiciones control (gráfica 8A); además, se puede observar un incremento significativo en la Fracción de Weber  $F_{[4,20]}=4.223$   $p < 0.05$  aunque el análisis *a posteriori* reveló que solo fue con la dosis de 0.3 mg/kg (Gráfica 8B).



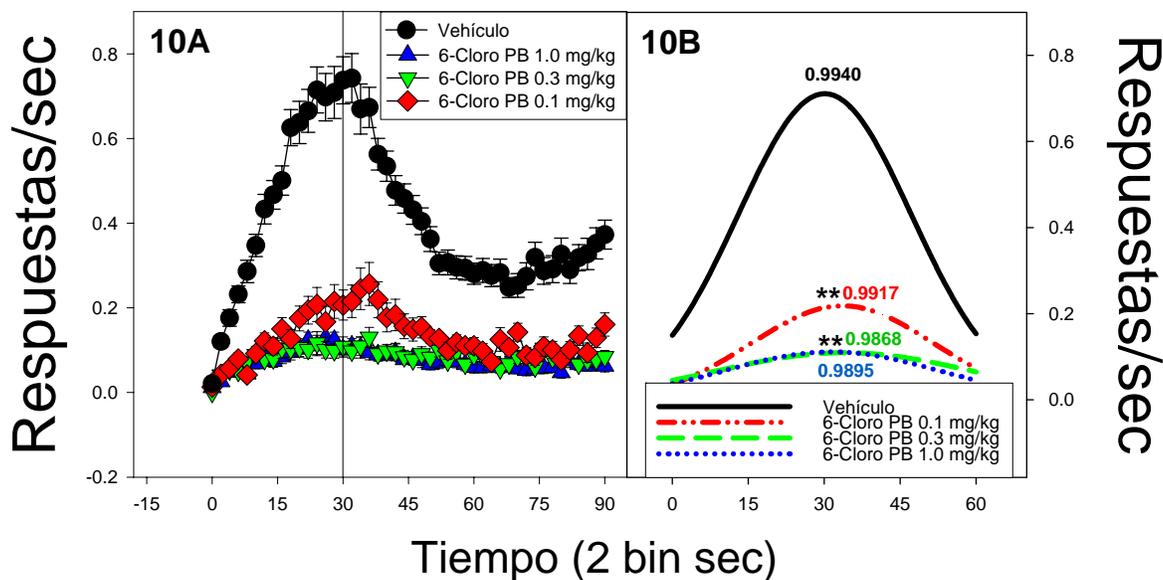
**Gráfica 8: Efecto del agonista dopaminérgico 7-OH-DPAT sobre los tiempos pico y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de 7-OH-DPAT. En la parte superior de la figura (8A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (8B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

La gráfica 9 muestra que tras la administración del agonista D<sub>4</sub>, PD 168077 se pudo observar un decremento en las tasas de respuesta obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 9A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]} 3.531 p < 0,05$ ), el análisis *a posteriori* y la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que solo la dosis de 0,3 mg/kg decremento la tasa de respuestas significativamente (gráfica 9B), Por otra parte no se observaron efectos significativos sobre los tiempos pico  $F_{[4,20]}=1.043 p > 0.05$  y las fracciones de Weber  $F_{[4,20]} 0.130 p > 0.05$  (no se muestran).



Gráfica 9: Efecto del agonista dopaminérgico PD 168077 sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 9A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de PD 168077. La gráfica 9B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x_0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

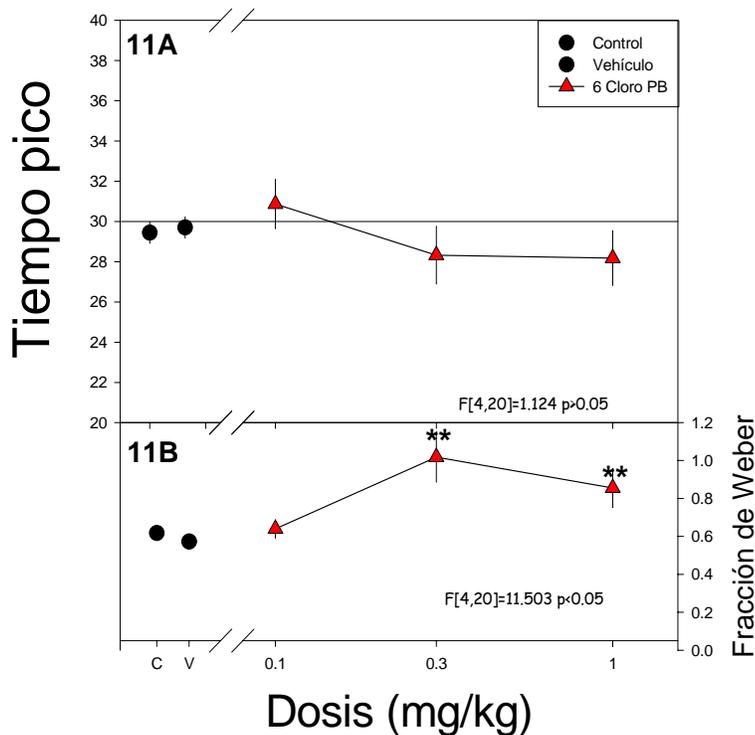
La gráfica 10 muestra que tras la administración del agonista  $D_{1\text{LIKE}}$ , 6-Cloro PB se pudo observar un decremento en las tasas de respuestas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrados en procedimiento de pico (gráfica 10A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]} 83.143 p < 0,05$ ), el análisis *a posteriori* y la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que las dosis de 0,3 y 1.0 mg/kg decrementaron la tasa de respuestas significativamente (gráfica 10B),



**Gráfica 10: Efecto del agonista dopaminérgico 6-Cloro PB sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 10A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de 6-Cloro PB. La gráfica 10B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x0)/b)^2$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).**

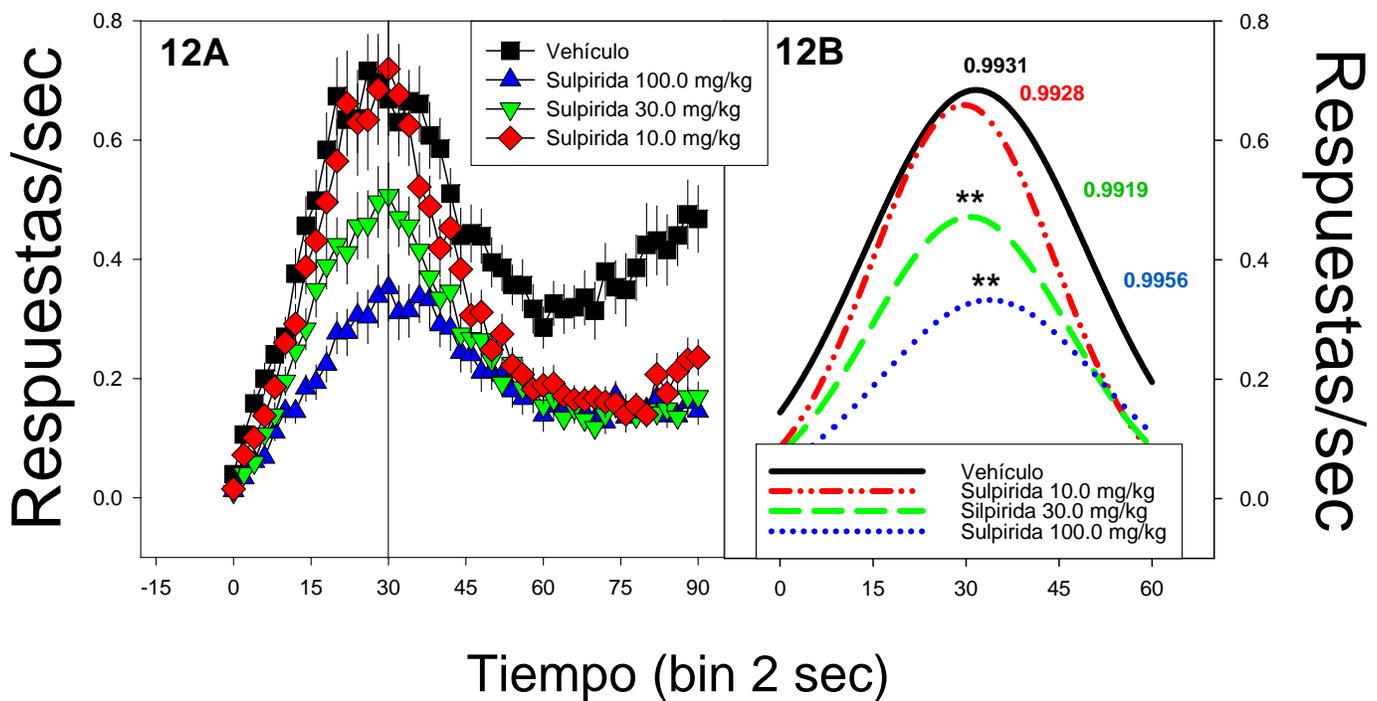
Al evaluar los tiempos pico tras la administración del agonista  $D_{1\text{LIKE}}$  6-Cloro PB mediante el análisis de varianza de una vía, ANOVA, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos

grupos al compararlos contra las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.124$   $p > 0.05$  (gráfica 11A); sin embargo el ANOVA realizado para evaluar las Fracciones de Weber de los distintos grupos reveló un incremento significativo entre los distintos grupos  $F_{[4,20]}=11.503$   $p < 0.05$ . El análisis *a posteriori* mostró que este efecto fue con las dosis de 0.3 y 1.0 mg/kg (Gráfica 11B).



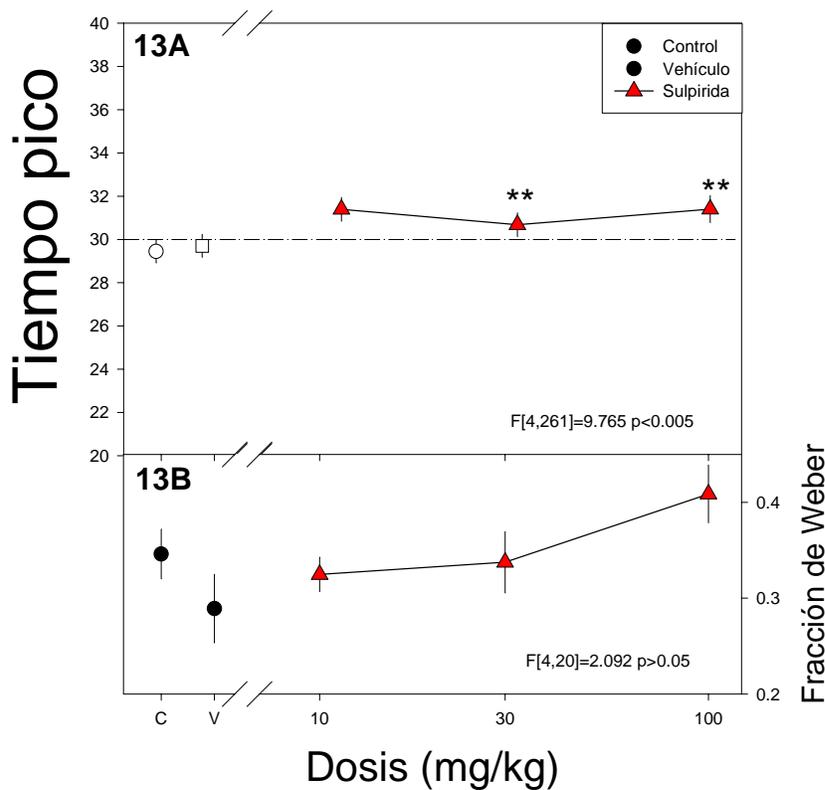
**Gráfica 11: Efecto del agonista dopaminérgico 6-Cloro PB sobre los tiempos pico y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de 6-Cloro PB. En la parte superior de la figura (11A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (11B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

La gráfica 12 muestra que tras la administración del antagonista  $D_{2\text{LIKE}}$ , sulpirida se pudo observar un decremento en las tasas de respuestas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 12A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]} 83.143 p < 0,05$ ), el análisis *a posteriori* y la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que las dosis de 30.0 y 100.0 mg/kg decrementaron significativamente las tasas de respuestas (gráfica 12B).



Gráfica 12: Efecto del antagonista dopaminérgico sulpirida sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 12A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de sulpirida. La gráfica 12B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a \cdot \exp(-.5 \cdot ((x-x_0)/b)^2)$ ) y la  $r$  de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

Al evaluar los tiempos pico tras la administración del antagonista  $D_{2\text{LIKE}}$  sulpirida mediante el análisis de varianza de una vía, ANOVA, se encontró que existen diferencias significativas,  $F_{[4,20]}=9.765$   $p < 0.05$  entre los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control. Las comparaciones *a posteriori* mostraron que las dosis de 30.0 y 100.0 mg/kg fueron las que resultaron diferentes con respecto a los controles (gráfica 13A). Por otra parte, también se encontró que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=2.092$   $p > 0.05$  (Gráfica 13B).

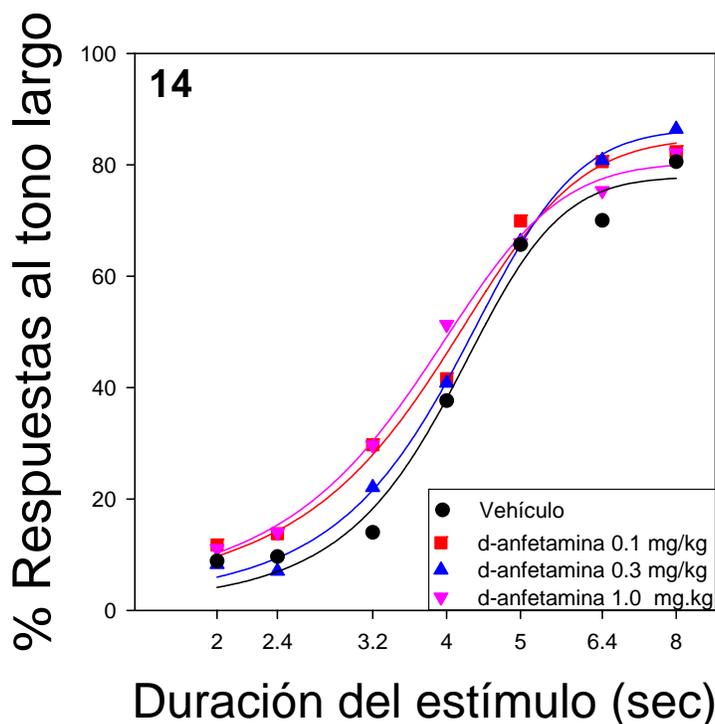


**Gráfica 13: Efecto del antagonista dopaminérgico sulpirida sobre los tiempos pico y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de sulpirida. En la parte superior de la figura (13A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (13B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

# SISTEMA DOPAMINÉRGICO

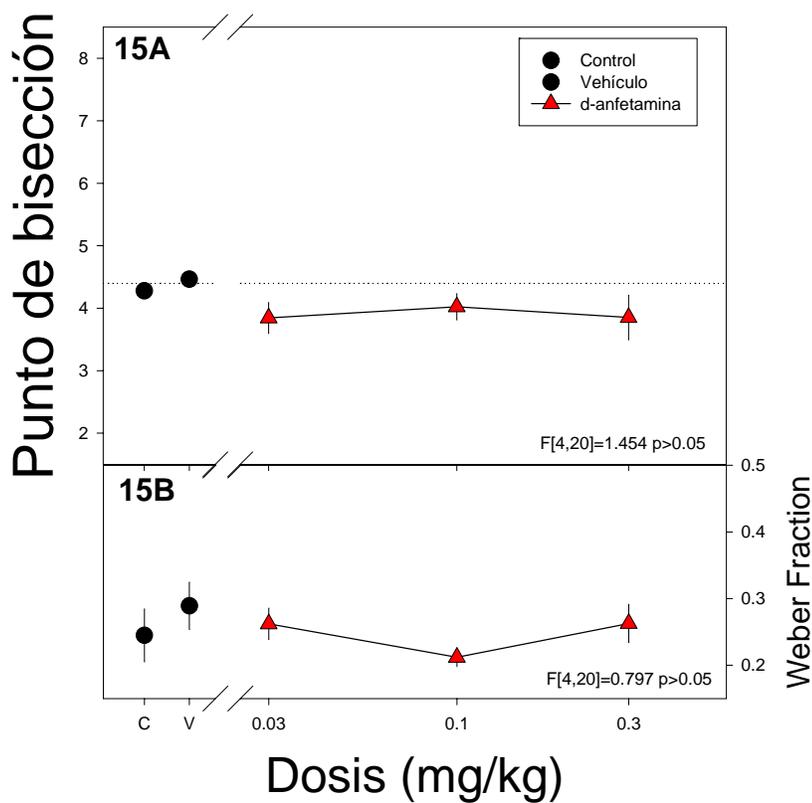
## ESTIMACIÓN TEMPORAL RETROSPECTIVA

La gráfica 14 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista  $D_{2\text{LIKE}}$  d-anfetamina provoca un desplazamiento hacia la izquierda en las funciones psicométricas lo que se interpreta como un incremento en la velocidad del supuesto “reloj” hipotético (gráfica 14).



Gráfica 14: Efecto del agonista dopaminérgico d-anfetamina sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

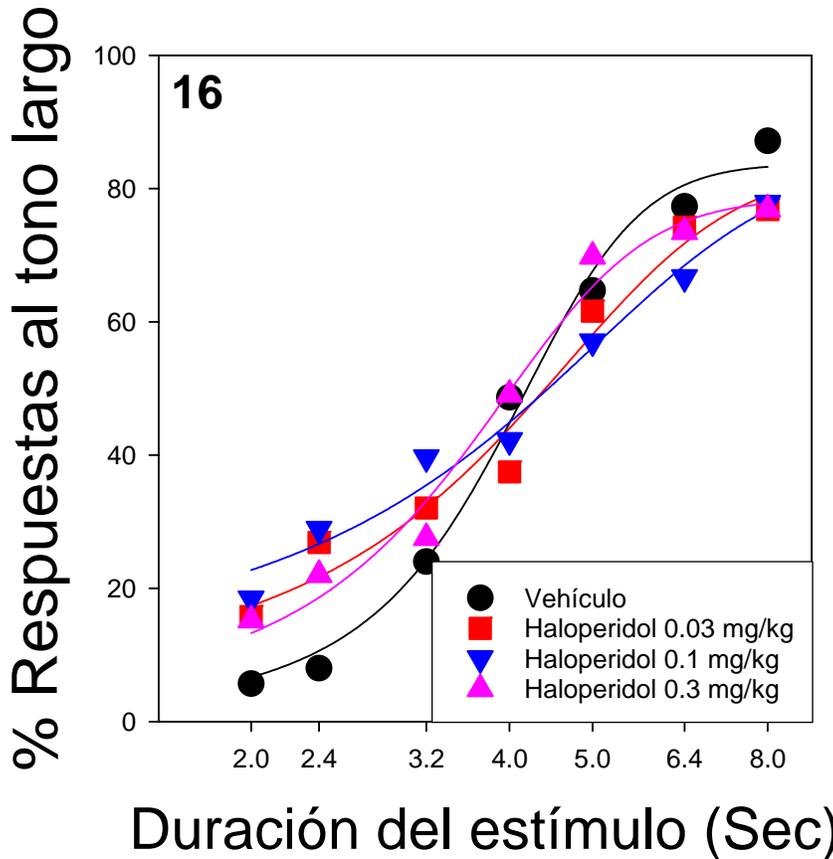
Al evaluar los puntos de bisección obtenidos a partir de las funciones psicométricas se puede observar un corrimiento del punto de bisección hacia los estímulos de corta duración, pero al ser analizados con un ANOVA no se encontraron diferencias significativas en los puntos de bisección al compararlos contra las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.454$   $p > 0.05$  (Gráfica 15A). En la parte baja de la figura 15 se observa que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=0.797$   $p > 0.05$  (gráfica 15B).



**Gráfica 15: Efecto del agonista dopaminérgico d-anfetamina sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las *condiciones control (C)* y *vehículo (V)*, a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de d-anfetamina. En la parte superior de la figura (15A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (15B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

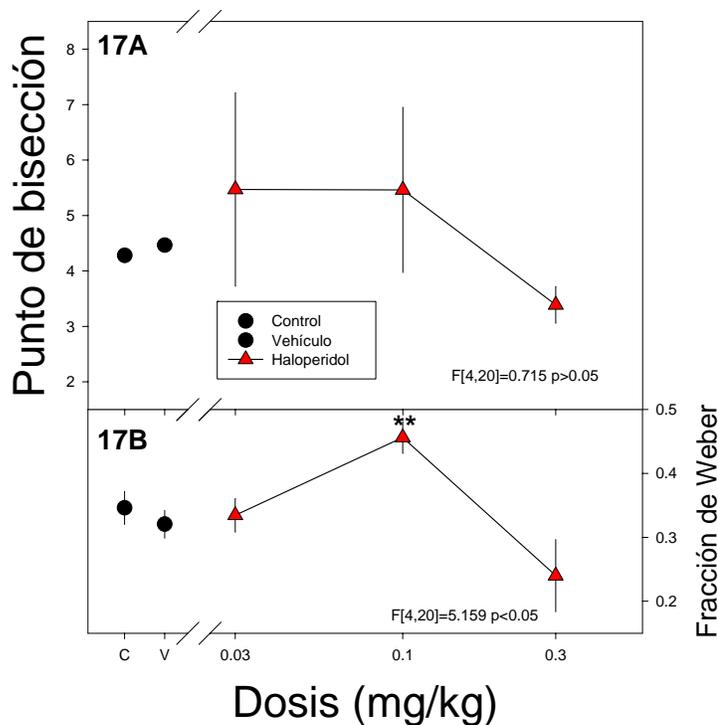
La gráfica 16 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros

$f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del antagonista  $D_{2LIKE}$  haloperidol provoca desplazamiento hacia la derecha con las dosis de 0.1 y 0.3 mg/kg lo que se interpreta como una deceleración de la velocidad del supuesto “reloj” hipotético, sin embargo con la dosis de 0.03 mg/kg provoca un desplazamiento hacia la izquierda en las funciones psicométricas (gráfica 16).



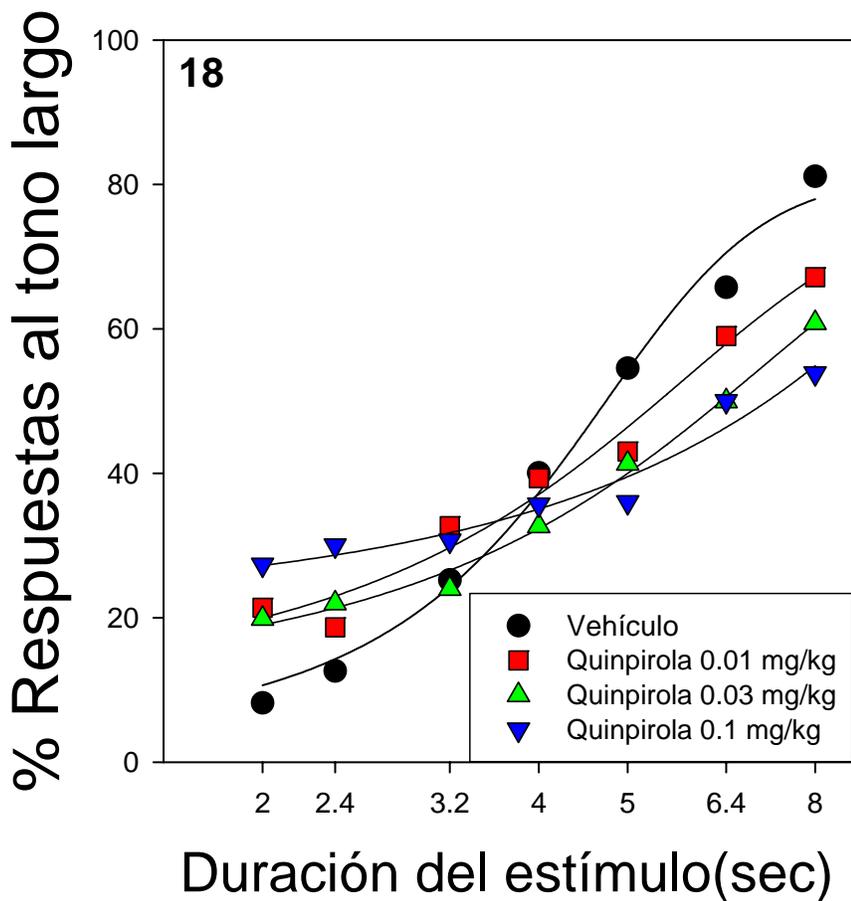
**Gráfica 16: Efecto del antagonista dopaminérgico haloperidol sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c)$ .**

Al evaluar los puntos de bisección obtenidos a partir de las funciones psicométricas se puede observar que no hay un efecto dosis dependiente en el recorrimiento de los puntos de bisección y al ser analizados con un ANOVA de una vía no se encontraron diferencias significativas en los puntos de bisección de los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control  $F_{[4,20]}=0.715$   $p > 0.05$  (Gráfica 17A). En la parte baja de la figura 17 se observa que existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=5.159$   $p < 0.05$  sin embargo al igual que en los puntos de bisección no son dosis dependientes (gráfica 17B).



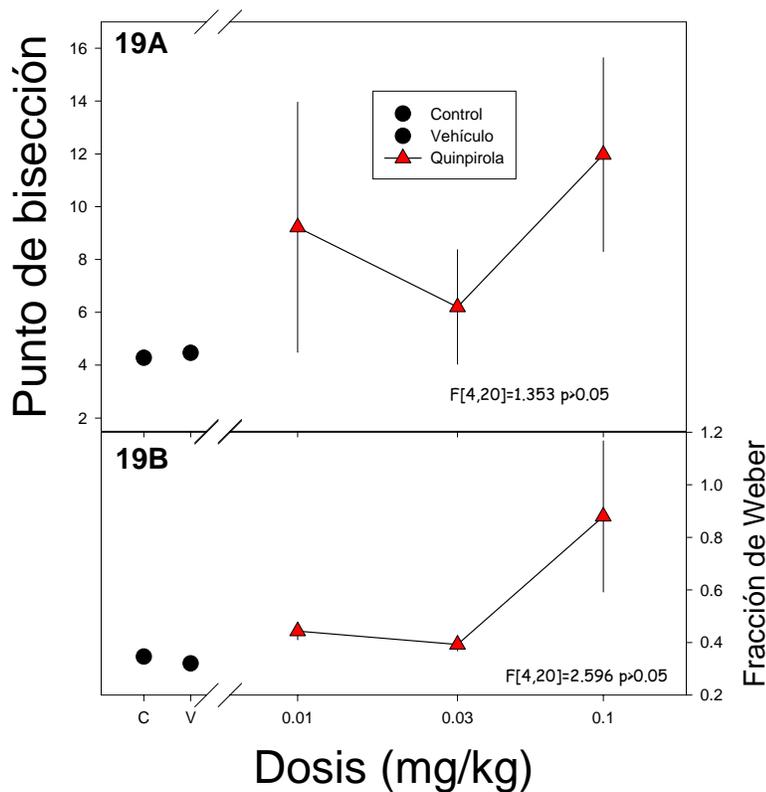
**Gráfica 17: Efecto del antagonista dopaminérgico haloperidol sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de haloperidol. En la parte superior de la figura (17A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (17B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

La gráfica 18 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista D<sub>2</sub> quinpirola provoca recorrimiento hacia la derecha de las funciones psicométricas, sin embargo produce un aplanamiento de estas lo que significa que hay una desensibilización al paso del tiempo (gráfica 18).



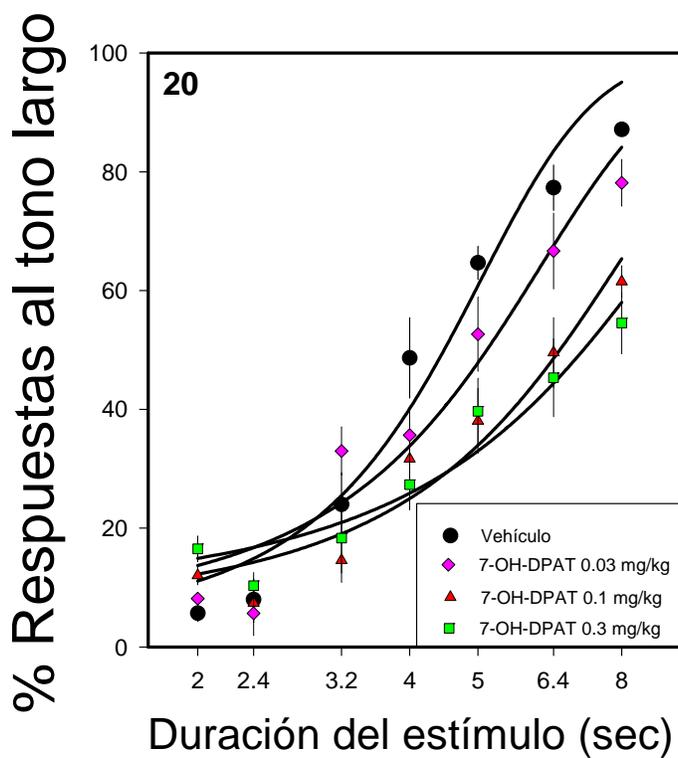
Gráfica 18: Efecto del agonista dopaminérgico quinpirola sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Al evaluar los puntos de bisección obtenidos a partir de las funciones psicométricas se puede observar un corrimiento del punto de bisección hacia los estímulos de larga duración, pero al ser analizados con un ANOVA de una vía no se encontraron diferencias significativas en los puntos de bisección al compararlos contra las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.353$   $p > 0.05$  (Gráfica 19A). En la parte baja de la figura 19 se observa que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber obtenidas de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=2,596$   $p > 0.05$  (gráfica 19B).



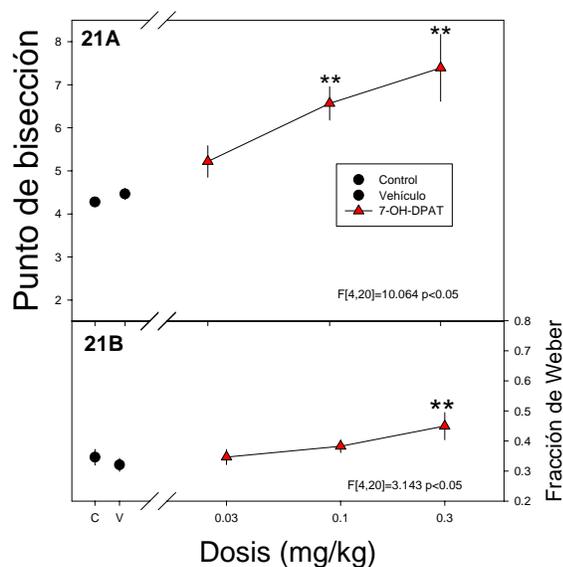
**Gráfica 19: Efecto del agonista dopaminérgico quinpirola sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de quinpirola. En la parte superior de la figura (19A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (19B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 20 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista  $D_3$  7-OH-DPAT provoca desplazamiento dosis dependiente hacia la derecha de las funciones psicométricas, sin embargo se observa un aplanamiento de las funciones psicofísicas (gráfica 20).



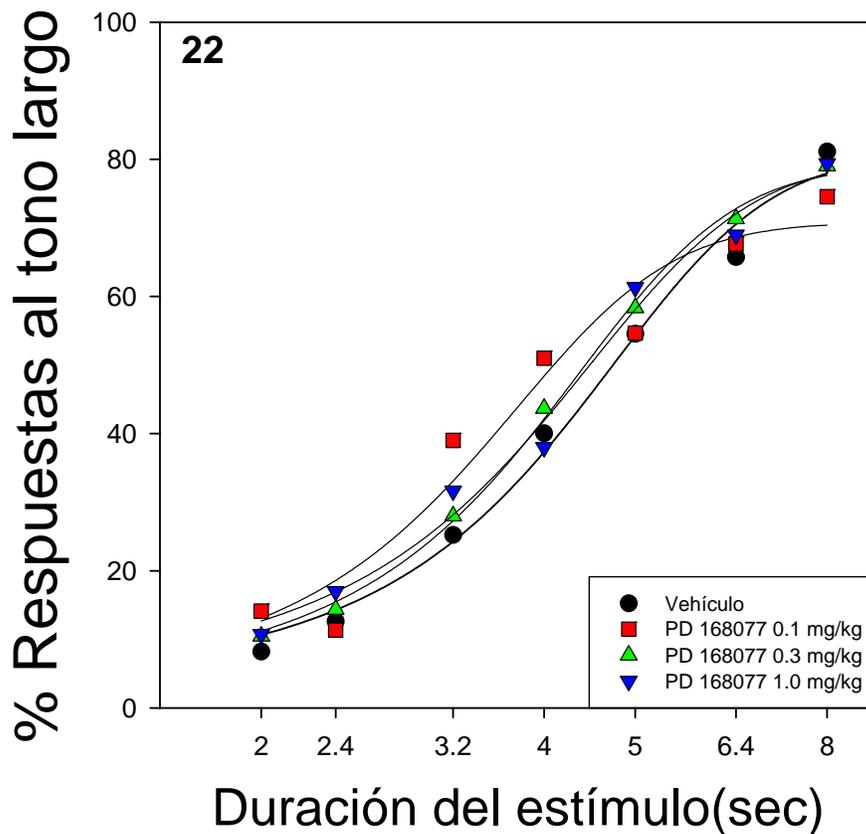
Gráfica 20: Efecto del agonista dopaminérgico 7-OH-DPAT sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Cuando se evaluaron los puntos de bisección temporal tras la administración del agonista D<sub>3</sub> 7-OH-DPAT se puede observar un efecto dosis dependiente en el incremento de los puntos de bisección hacia los estímulos de larga duración. El análisis de varianza ANOVA reveló diferencias significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=10.064$   $p < 0.05$ , mientras que el análisis *a posteriori* con el test de Duncan mostró que solo las dosis más altas presentaban diferencias significativas con respecto a las condiciones control (gráfica 21A) Finalmente se puede observar el efecto de las distintas dosis sobre la Fracción de Weber. El ANOVA reveló diferencias significativas,  $F_{[4,20]}=3.343$   $p < 0.05$ , mientras que el análisis *a posteriori* reveló que sólo la dosis más alta mostró diferencias significativas con respecto a las condiciones control (gráfica 21B).



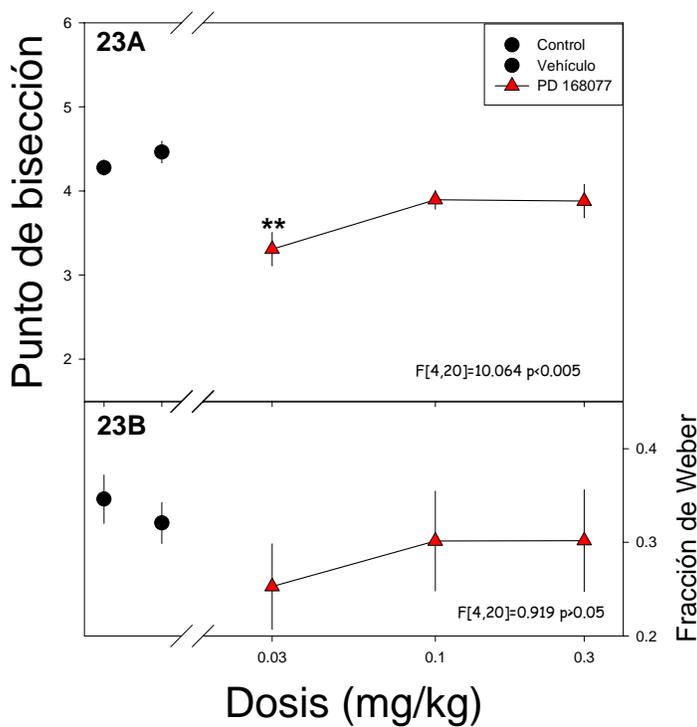
**Gráfica 21: Efecto del agonista dopaminérgico 7-OH-DPAT sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber. Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de 7-OH-DPAT. En la parte superior de la figura (21A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (21B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).**

La gráfica 22 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoïdal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista D<sub>4</sub> PD 168077 no produce desplazamiento ni aplanamiento de las funciones psicométricas (gráfica 22).



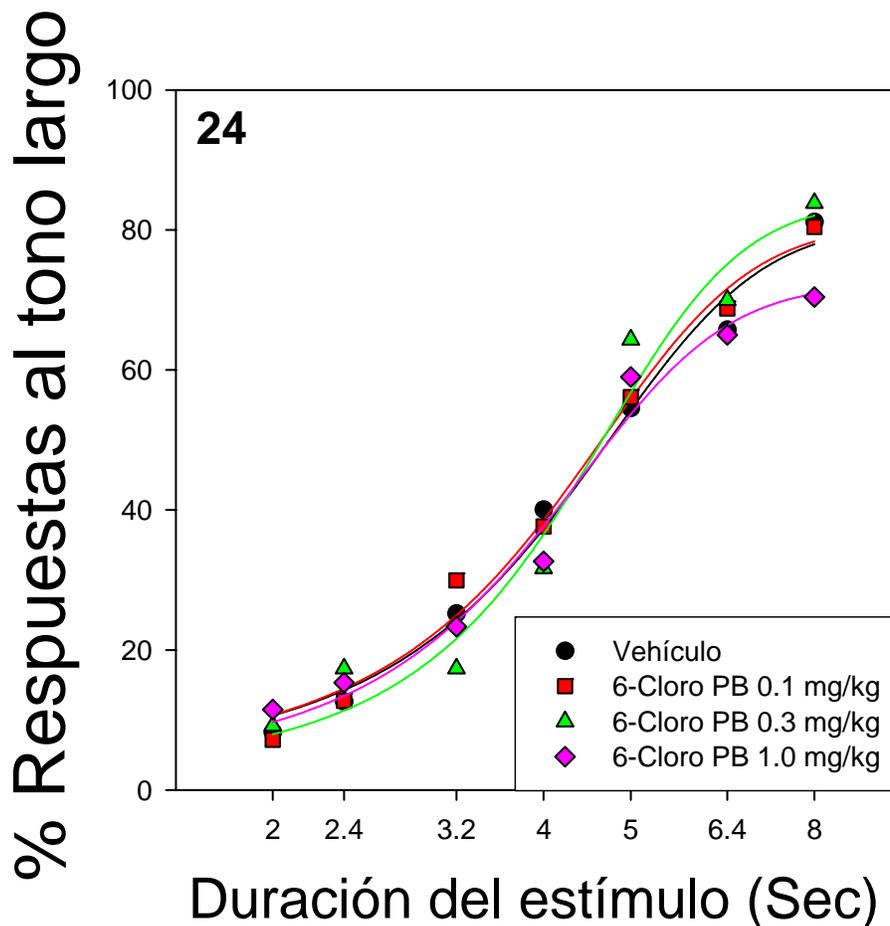
Gráfica 22: Efecto del agonista dopaminérgico PD 168077 sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoïdal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Cuando se evaluaron los puntos de bisección temporal tras la administración del agonista D<sub>4</sub> PD 168077 se puede observar que hay un decremento en los puntos de bisección. El análisis de varianza ANOVA reveló diferencias significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=10.064$   $p < 0.05$ , mientras que el análisis *a posteriori* con el test de Duncan mostró que solo la dosis más baja (0.03 mg/kg) presentaba diferencias significativas con respecto a las condiciones control (gráfica 23A). Finalmente las Fracciones de Weber de los distintos grupos no muestran diferencias significativas  $F_{[4,20]}=0.919$   $p > 0.05$  (gráfica 23B).



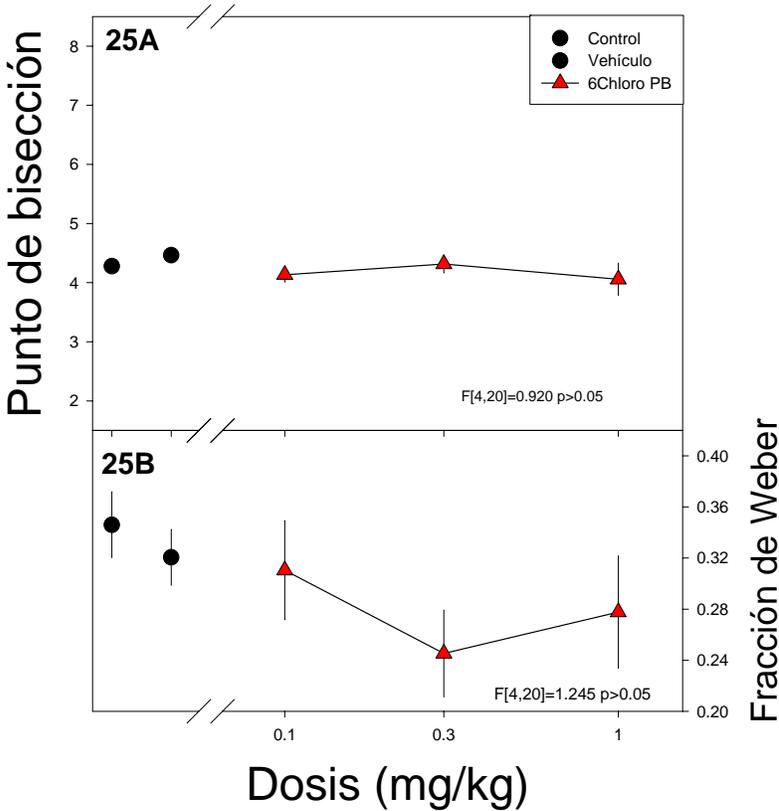
**Gráfica 23: Efecto del agonista dopaminérgico PD 168077 sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de PD-168077. En la parte superior de la figura (23A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (23B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 24 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista  $D_{1LIKE}$  6-Cloro PB no produce desplazamiento ni aplamiento de las funciones psicométricas (gráfica 24).



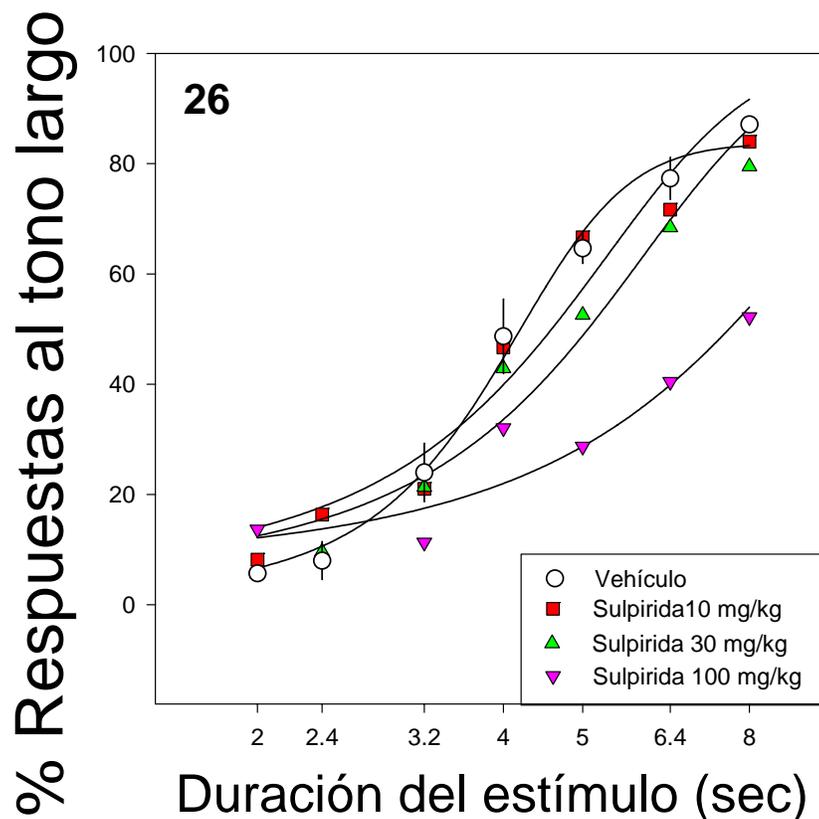
Gráfica 24: Efecto del agonista dopaminérgico 6-Cloro PB sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Al evaluar los puntos de bisección y las fracciones de Weber tras la administración del agonista  $D_{1LIKE}$  6-Cloro PB con una ANOVA de una vía se puede observar que no existen diferencias significativas en los puntos de bisección de los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control ( $F_{[4,20]}=0.920$   $p > 0.05$ ) (gráfica 25A). Las Fracciones de Weber obtenidas tampoco muestran diferencias significativas en los distintos grupos al compararlas contra las condiciones control  $F_{[4,20]}=1.245$   $p > 0.05$  (gráfica 25B).



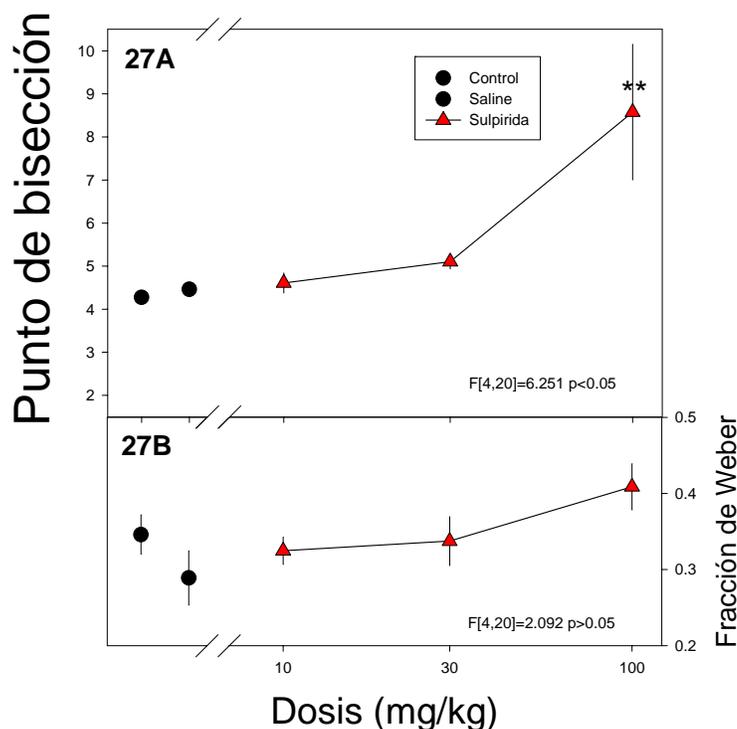
**Gráfica 25: Efecto del agonista dopaminérgico 6-Cloro PB sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de 6-Cloro PB. En la parte superior de la figura (25A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (25B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 26 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del antagonista D<sub>2</sub> sulpirida provoca desplazamiento hacia la derecha con las dosis de 30.0 y 100.0 mg/kg, sin embargo la dosis de 100,0 mg/kg produce aplanamiento de las funciones psicométricas (gráfica 26).



Gráfica 26: Efecto del antagonista dopaminérgico sulpirida sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Cuando se evaluaron los puntos de bisección temporal tras la administración del antagonista D<sub>2</sub> sulpirida se puede observar que hay un incremento en los puntos de bisección. El análisis de varianza de una vía, ANOVA, reveló diferencias significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=6.251$   $p < 0.05$  al compararlos contra las condiciones control, mientras que el análisis *a posteriori* con el test de Duncan mostró que solo la dosis más alta (100.0 mg/kg) presentaba diferencias significativas con respecto a las condiciones control (gráfica 27A). Finalmente las Fracciones de Weber obtenidas de los distintos grupos no muestran diferencias estadísticamente significativas  $F_{[4,20]}= 2.092$   $p > 0.05$  (gráfica 27B).

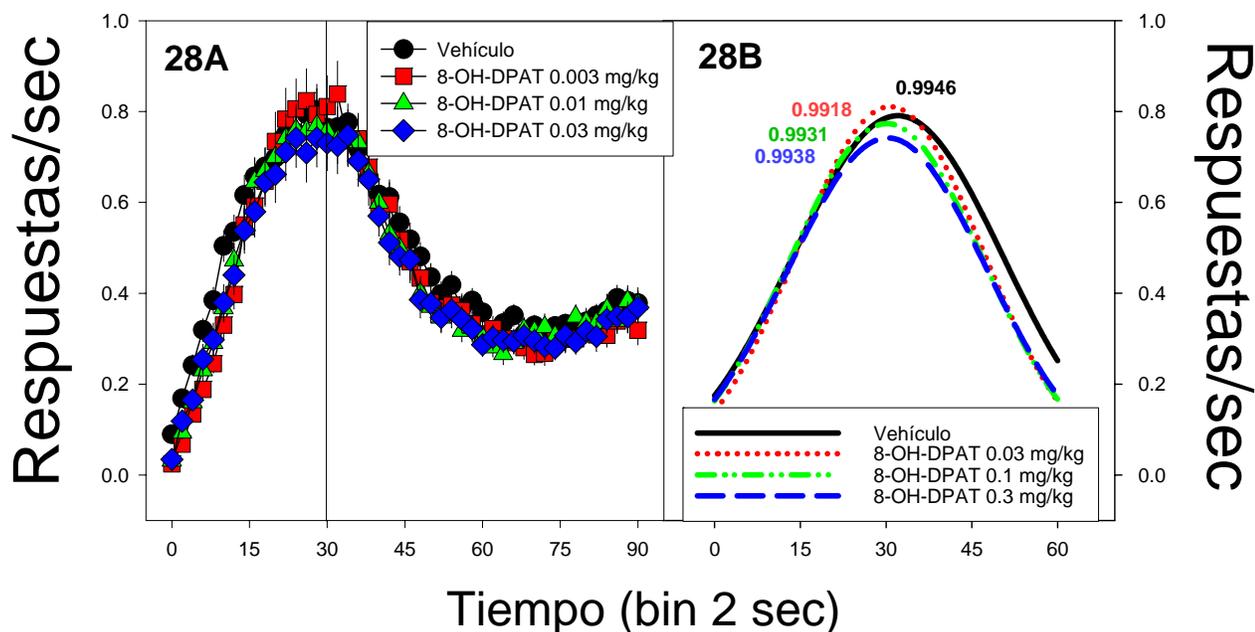


**Gráfica 27: Efecto del antagonista dopaminérgico sulpirida sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de sulpirida. En la parte superior de la figura (27A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (27B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

# RESULTADOS SISTEMA SEROTONÉRGICO

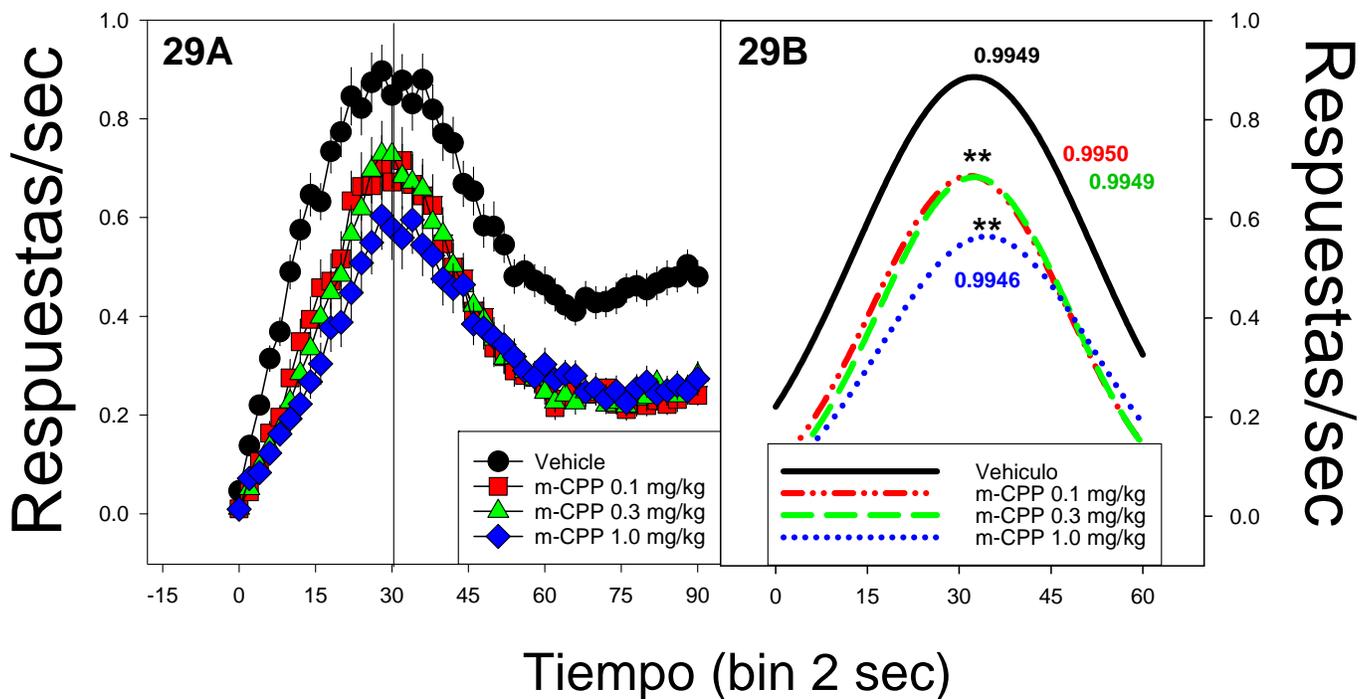
## ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA

La gráfica 28 muestra que el agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-Hidroxi-di-propilamino tetralin, 8-OH-DPAT, no afectó la tasa pico en ninguna de las dosis empleadas en el procedimiento de pico cuando se comparó el efecto de esta administración con las condiciones control (gráfica 28A). La normalización de las curvas mediante la función de campana de Gauss de tres parámetros confirma el nulo efecto del 8-OH-DPAT en la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 28B). Cuando se comparó la ejecución de los animales bajo las diferentes dosis administradas con las condiciones control tampoco se observó efecto significativo en los tiempos pico ( $F_{[4,20]}=1.634$   $p > 0.05$ ) y las Fracciones de Weber ( $F_{[4,20]}=1.283$   $p > 0.05$ ) (no se muestran).



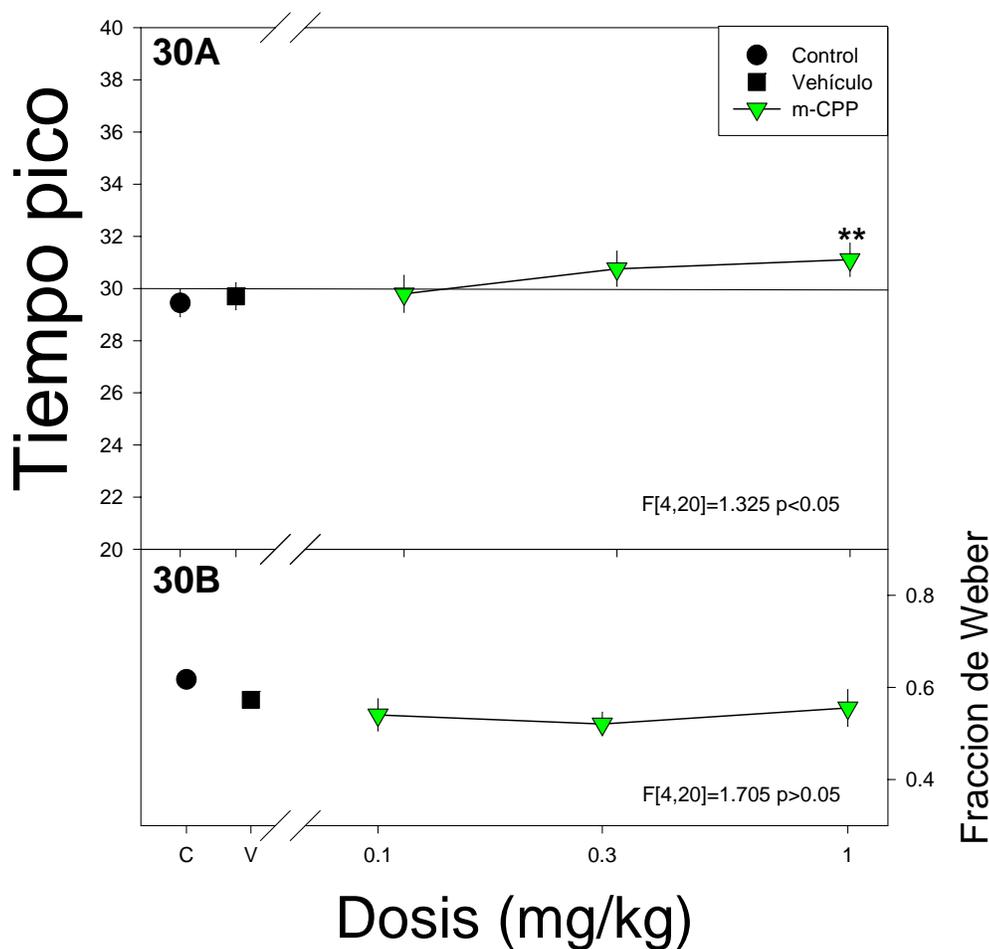
Gráfica 28: Efecto del agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 28A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de 8-OH-DPAT. La gráfica 28B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 29 muestra que tras la administración del agonista 5-HT<sub>1B/2C</sub> m-CPP se pudo observar un decremento en las tasas de respuestas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 29A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]} 4.363 p < 0,05$ ), el análisis *a posteriori* y la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que todas las dosis decrementaron la tasa de respuestas significativamente con respecto a las condiciones control (gráfica 29B).



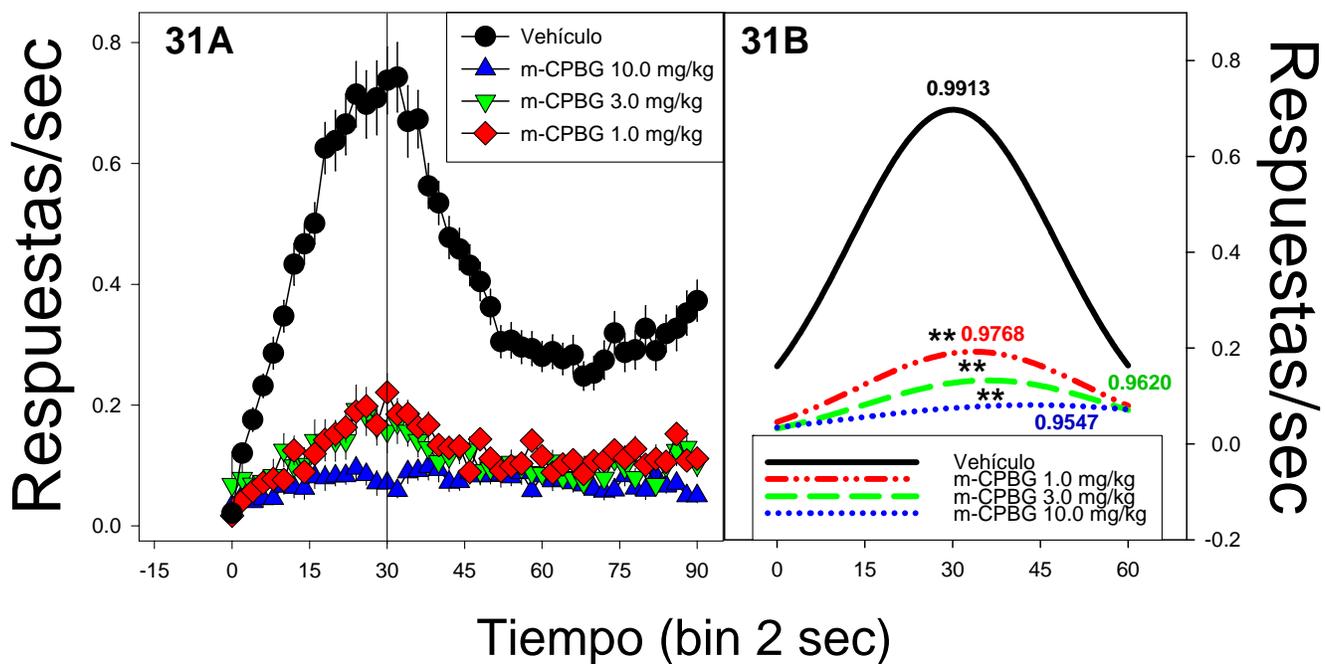
**Gráfica 29:** Efecto del agonista serotoninérgico m-CPP sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 29A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de m-CPP. La gráfica 29B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a*\exp(-.5*((x-x_0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

Al evaluar los tiempos pico tras la administración del agonista 5-HT<sub>1B/2C</sub> m-CPP mediante el análisis de varianza de una vía, ANOVA, se encontró que existen diferencias significativas,  $F_{[4,20]}= 1.325$   $p < 0.05$  entre los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control. Las comparaciones *a posteriori* mostraron que solo la dosis de 1.0 mg/kg resultó diferente con respecto a las condiciones control (gráfica 30A). Por otra parte, se encontró que no existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber obtenidas de los distintos grupos  $F_{[4,20]}=1.705$   $p > 0.05$  (Gráfica 30B).



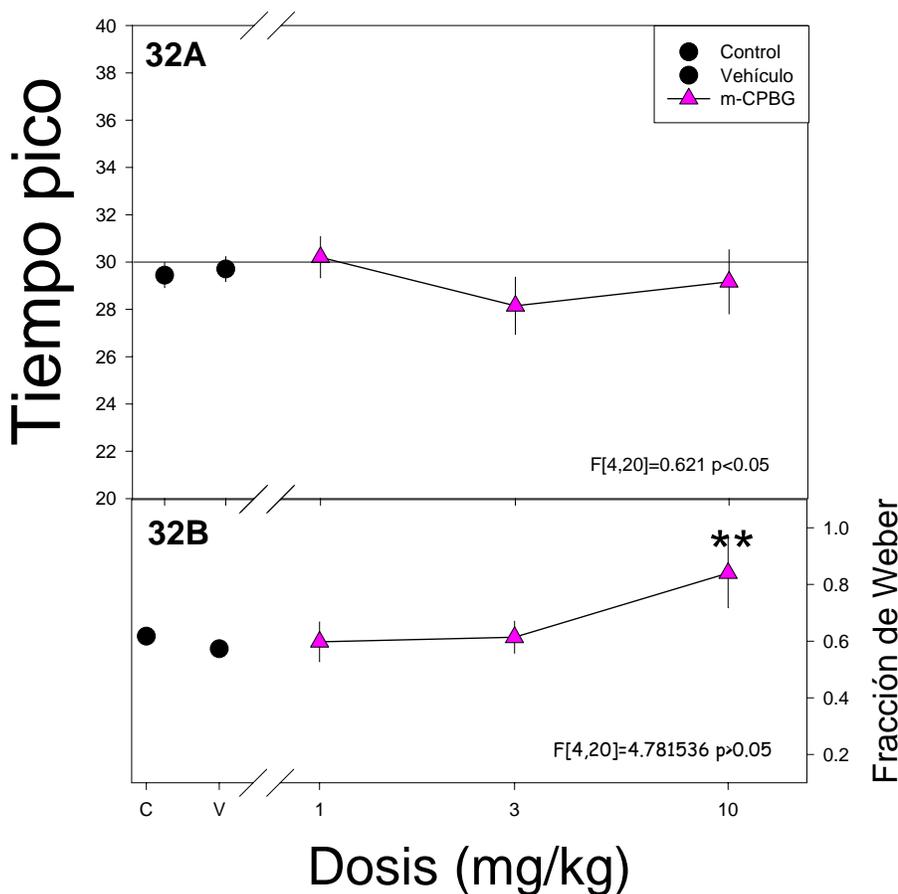
**Gráfica 30: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPP sobre los tiempos pico y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de m-CPP. En la parte superior de la figura (30A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (30B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 31 muestra que tras la administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> m-CPBG se pudo observar un decremento en las tasas de respuestas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico (gráfica 31A). El análisis de varianza para las distintas condiciones mostró existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta de la ejecución de los sujetos con respecto a las condiciones control ( $F_{[4,20]} 160.148 p < 0,05$ ), el análisis *a posteriori* y la normalización de las curvas con la función de campana de Gauss de tres parámetros permite observar que todas las dosis decrementaron la tasa de respuestas significativamente al comparalas contra las condiciones control (gráfica 31B).



Gráfica 31: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPBG sobre la ejecución de los sujetos en el procedimiento de pico. Se grafica las respuestas/sec en bin de 2 segundos cada uno. En la gráfica 31A se observan las tasas de respuesta obtenidas tras las distintas dosis de m-CPBG. La gráfica 31B muestra las curvas normalizadas de las tasas de respuesta mediante la función de tres parámetros para campana de Gauss ( $f=a \cdot \exp(-.5 \cdot ((x-x_0)/b)^2)$ ) y la r de ajuste. Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

Al evaluar los tiempos pico tras la administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> m-CPBG mediante el análisis de varianza de una vía, ANOVA, se encontró que no existen diferencias significativas,  $F_{[4,20]}= 0.621$   $p < 0.05$  entre los distintos grupos al compararlos contra las condiciones control (gráfica 32A). Por otra parte, se encontró que existen diferencias significativas en las Fracciones de Weber de los distintos grupos al compararlas contra las condiciones control ( $F_{[4,20]}= 4.781$   $p > 0.05$ ) las comparaciones *posteriori* mostraron que solo la dosis de 10.0 mg/kg resulto diferente al compararla contra las condiciones control (Gráfica 32B).

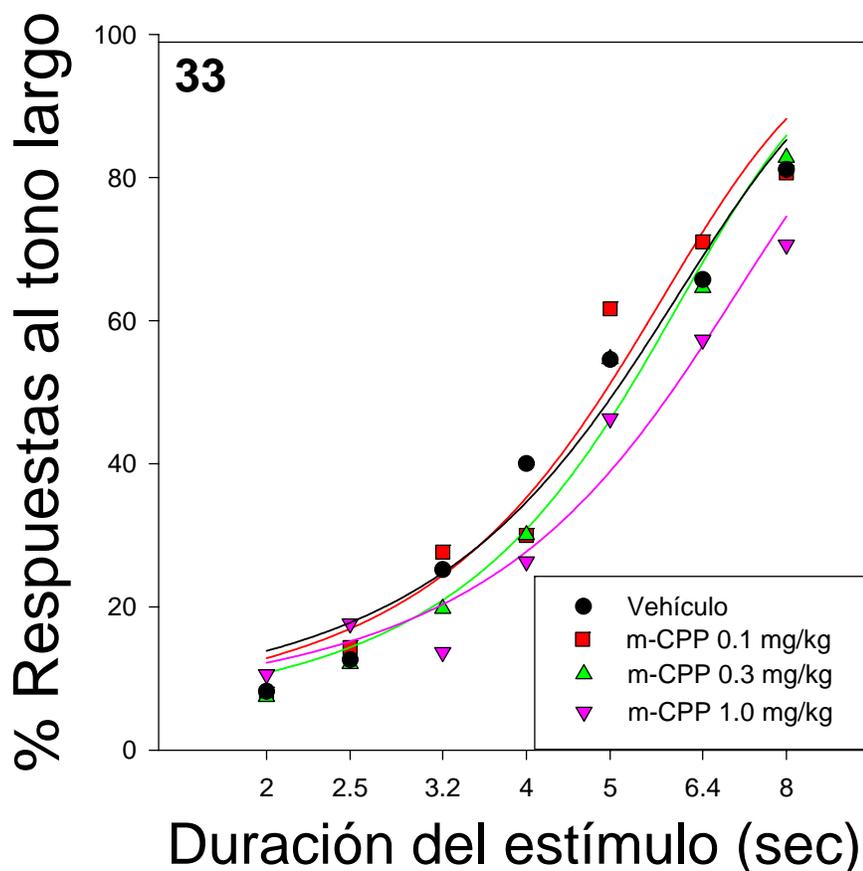


**Gráfica 32: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPBG sobre los tiempos pico y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de m-CPBG. En la parte superior de la figura (32A) se observan los tiempos pico mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (32B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

# SISTEMA SEROTONÉRGICO

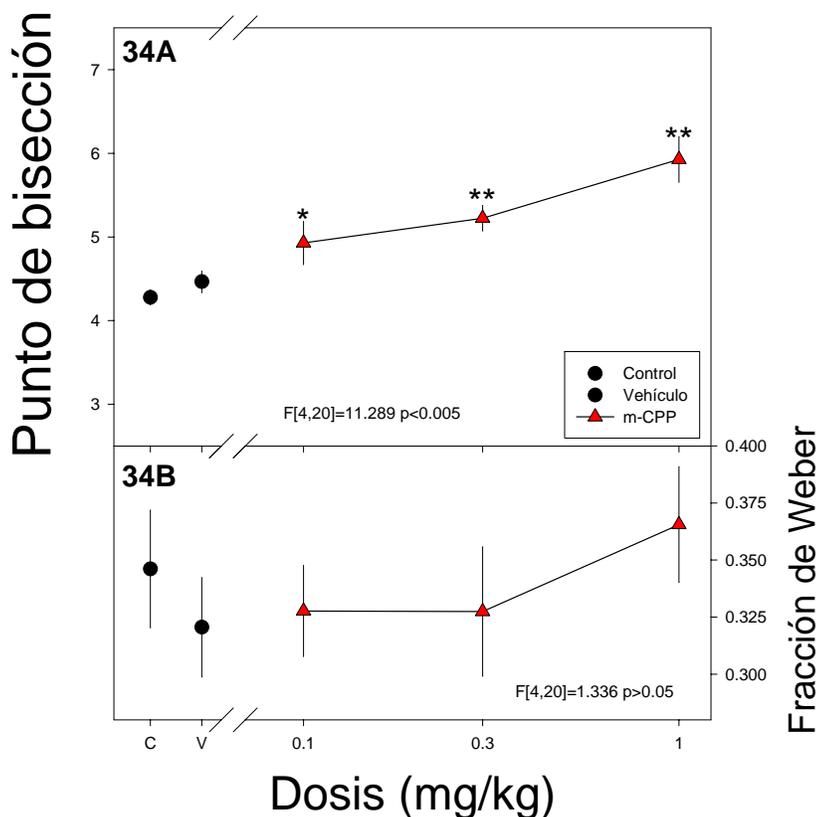
## ESTIMACIÓN TEMPORAL RETROSPECTIVA

La gráfica 33 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista 5-HT<sub>1B/2C</sub> provoca desplazamiento hacia la derecha con la dosis de 1.0 mg/kg (gráfica 33).



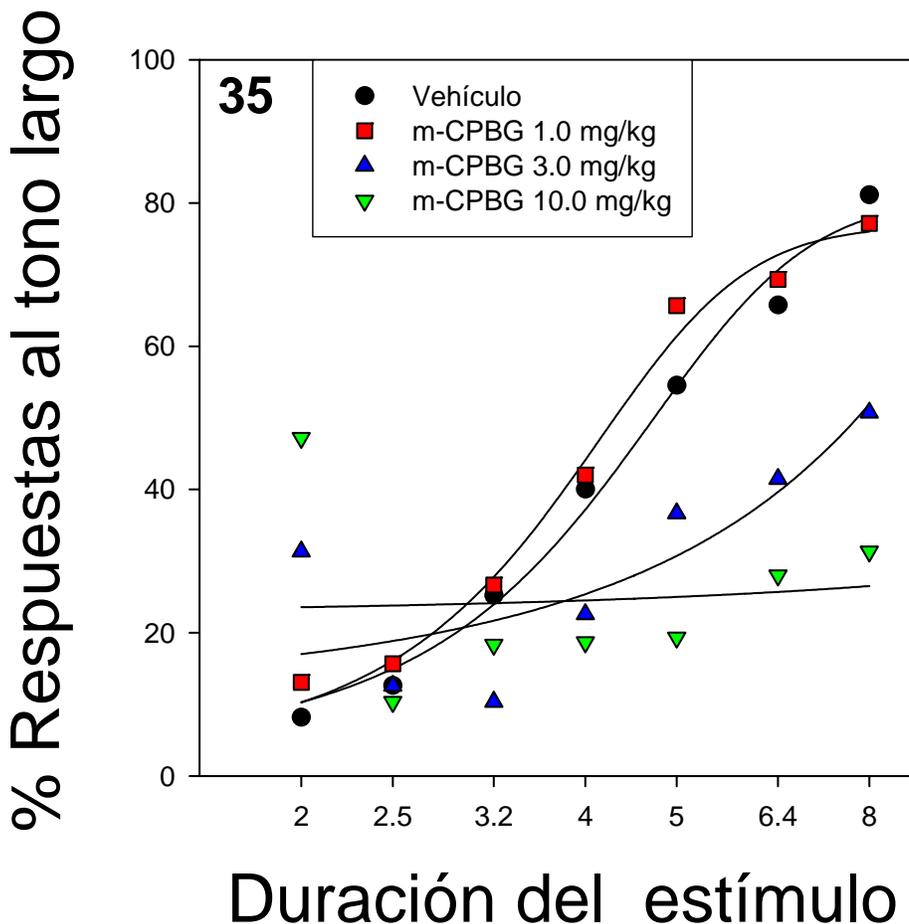
Gráfica 33: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPP sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoideal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

Al evaluar los puntos de bisección temporal tras la administración del agonista 5-HT<sub>1B/2C</sub> m-CPP se puede observar que hay un incremento en los puntos de bisección. El análisis de varianza de una vía, ANOVA, reveló diferencias significativas al comparar la ejecución contra las condiciones control ( $F_{[4,20]}=11.289$   $p < 0.05$ ), mientras que el análisis *a posteriori* con el test de Duncan mostró que todas las dosis administradas obtuvieron diferencias significativas con respecto a las condiciones control (gráfica 34A). Finalmente las Fracciones de Weber obtenidas de los distintos grupos no muestran diferencias significativas en ninguna de las condiciones evaluadas  $F_{[4,20]}= 1.336$   $p > 0.05$  (gráfica 34B).



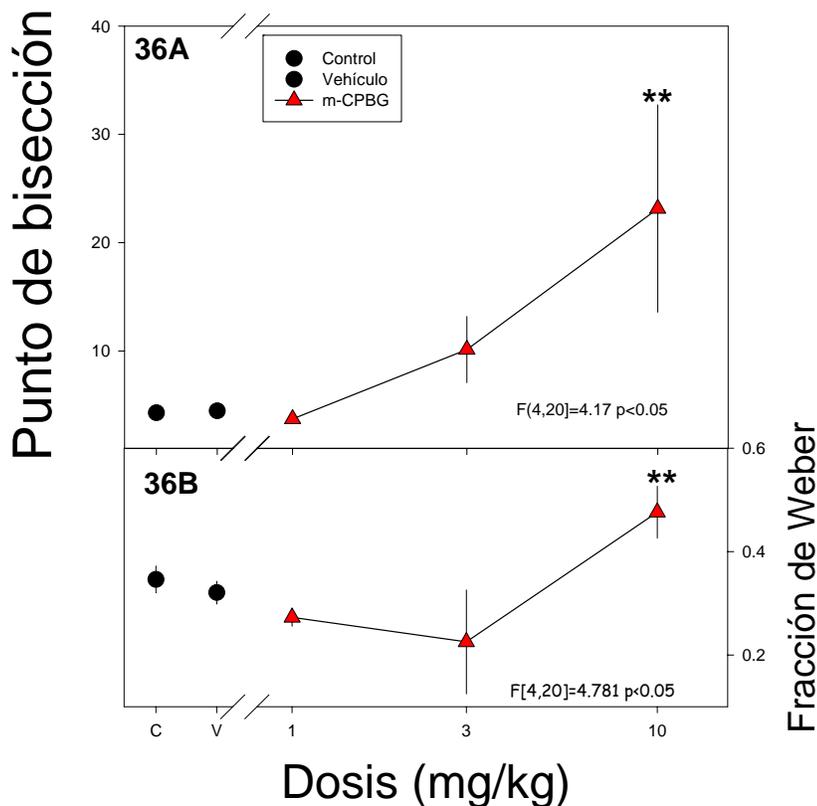
**Gráfica 34: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPP sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de m-CPP. En la parte superior de la figura (34A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (34B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

La gráfica 35 muestra las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal a partir de la función sigmoïdal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ . La administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> provoca en las funciones psicométricas un recorrimiento hacia la derecha de las funciones psicométricas, sin embargo se observa un aplanamiento con las dosis de 3.0 y 1.0 mg/kg (gráfica 35).



Gráfica 35: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPBG sobre las funciones psicométricas obtenidas de la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de bisección temporal. En el eje de las Y se observa el porcentaje de respuestas al operando asociado con el tono de larga duración (8 sec); en el eje de las X se grafican las distintas duraciones a las que fueron expuestos los sujetos experimentales en las sesiones de prueba (2,4, 3,2, 4, 5, y 6,4 sec). Los resultados obtenidos fueron normalizados con la función sigmoïdal de dos parámetros  $f=(100/(1+(x/b)^c))$ .

En la evaluación de los puntos de bisección se puede observar un incremento de los puntos de bisección obtenidos. Al ser analizados estos puntos mediante un ANOVA se encontró que existen diferencias significativas entre los distintos grupos,  $F_{[4,20]}=4.17$   $p < 0.005$ , mientras que el análisis *a posteriori* reveló que solo la dosis 10.0 mg/kg fue diferente a las condiciones control (gráfica 9A). En el caso de las fracciones de Weber se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los distintos grupos ( $F_{[4,20]}=4.781536$   $p > 0.05$ ) y el análisis *a posteriori* reveló que solo la dosis de 10.0 mg/kg fue significativa (gráfica 9B)



**Gráfica 36: Efecto del agonista serotoninérgico m-CPBG sobre los puntos de bisección y fracciones de Weber.** Los puntos a la izquierda del rompimiento del eje de las X corresponden a las condiciones control (C) y vehículo (V), a la derecha del rompimiento se grafican las distintas dosis de m-CPBG. En la parte superior de la figura (36A) se observan los puntos de bisección mientras que en la parte baja se observan las Fracciones de Weber (36B). Con asteriscos (\*\*) se marcan los resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN**

### **SISTEMA DOPAMINÉRGICO**

#### **ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA**

Cuando se expone a reforzamiento periódico, una gran cantidad de organismos muestran sensibilidad conductual a los intervalos de tiempo entre los reforzadores sucesivos. Uno de estos mecanismos de estimación temporal puede permitir que el organismo evalúe el tiempo que esta transcurriendo en el momento actual, a esto se le ha llamado en la nomenclatura propuesta por Killeen y Feterman (1981) como estimación temporal inmediata. Esta habilidad de los sujetos ha sido estudiada de manera experimental desde la década de los sesentas donde en los primeros experimentos se exponía a sujetos a intervalos fijos y se registraba y evaluaba los patrones de respuesta que los organismos describían (programas de intervalo fijo, IF). Sin embargo no fue sino hasta 1970 donde se propuso el programa denominado procedimiento de pico que permitió evaluar de manera más precisa los mecanismos de estimación temporal (Catania, 1970; Roberts, 1981); este programa consiste en dos tipos de ensayos: ensayos comida (EnC) y ensayos pico (EnP). En los ensayos comida la señal que marca el intervalo se mantiene a lo largo del ensayo, siendo la primera respuesta que se emite después de que el intervalo ha pasado la que da acceso al reforzador y termina la señal. Acto seguido inicia un intervalo entre ensayos (IEE) antes del ensayo siguiente. En los ensayos pico se modifica la secuencia de ensayos comida ya que estos se introducen intercalados hasta alcanzar una proporción de 50/50. Cada uno de estos ensayos regularmente se alargan cuatro veces más que la duración de los ensayos comida (ej. EnC30, EnP120 seg.) y no se obtiene ningún reforzador. Debido a que la señal permanece constante y no se presenta el

reforzador, se ha concluido que el reloj continúa funcionando por lo que se puede observar la conducta aún cuando el intervalo asociado en los EnC ha pasado. El principal hallazgo de este procedimiento particular es sin duda la formación de un pico que coincide con el momento en que debió ser entregado el alimento. Esto permite ver claramente una tasa de respuesta inicial baja y conforme pasa el intervalo la tasa incrementa hasta llegar a una tasa máxima o tasa pico la cual se correlaciona con el momento en el cual se presenta el reforzador en los EnC, después de esta tasa máxima se observa un decremento simétrico formando una campana que se refleja en varias medidas (tasa pico, tiempo pico, spread, Fracción de Weber) que nos sirven como indicadores de la ejecución de los sujetos. El pico reflejado en la tasa de respuestas es una evidencia acerca de que los organismos hacen un estimado del momento de ocurrencia de los eventos ambientales. Además se observa que el ancho del pico incrementa conforme incrementa el intervalo a estimar, obvio cumplimiento de la ley de Weber. En la tarea de procedimiento de pico la teoría de SET afirma que la variabilidad en la ejecución de los sujetos producida por alguna alteración refleja una varianza en el estado de reloj (la tasa en la cual el marcapasos emite pulsos en cada ensayo), en el estado de memoria (las pendientes de las curvas asociadas con el almacenamiento y recuperación de la información) o el estado de decisión (en el que los sujetos determinan cuando el tiempo transcurrido marca el inicio de una tasa alta de respuesta). En este procedimiento se describió que la respuesta de los sujetos esta regulada por umbrales que determinan que tan parecidos son el tiempo transcurrido y el tiempo blanco real. Una medida de discrepancia es tomada al comparar el tiempo transcurrido y el tiempo blanco, cuando esta discrepancia es pequeña el organismo se mantiene respondiendo, pero cuando en los ensayos pico la discrepancia es grande y excede los umbrales el sujeto deja de responder (Gibbon & Church, 1984).

Los primeros hallazgos farmacológicos relacionados con el sistema dopaminérgico y este procedimiento fueron descritos por Maricq en 1981 en donde tras la administración del agonista  $D_{2\text{LIKE}}$  no-específico meta-anfetamina se observa un incremento en la tasa de respuesta de los sujetos (la tasa pico) tal como se ha descrito en varios estudios (Belke et al., 2005; Odum et al., 2002; Flores et al., 1995; Ksir, 1976), además se encontró un decremento en los tiempos pico siendo para este grupo de investigación evidencia directa del incremento de la velocidad del supuesto “reloj” interno. Sin embargo este estudio no menciona si hay un efecto sobre el ancho de los picos y en consecuencia un posible incremento en las Fracciones de Weber. Posteriormente Eckerman y sus colaboradores replicaron estos hallazgo utilizando el agonista d-anfetamina y encontraron que la d-anfetamina en dosis de 1.0 mg/kg producía un decremento de los tiempos picos sin alterar la tasa pico; sin embargo tampoco reportó el efecto sobre la Fracción de Weber (Eckerman et al., 1987); este resultado confirmo en primera instancia la hipótesis dopaminérgica pero solo con una dosis ya que la dosis de 3.0 mg/kg que ellos utilizaron produce un decremento en la tasa y aplana la forma del pico. Posterior a estos estudios hay dos estudios cruciales en cuanto a la hipótesis dopaminérgica ya que en dos laboratorios distintos evaluaron la estimación temporal inmediata tras la administración de la d-anfetamina y hallaron dos resultados completamente distintos. El primero de ellos es el reportado por Kraemer et al., en 1997 dónde se evaluaron las dosis de 0.3, 1.0 y 2.0 mg/kg i.m. encontrando que, de manera congruente con la hipótesis dopaminérgica, se decrementaba el tiempo pico más no tenía efecto sobre la tasa de respuesta, aunque por otro parte, estos autores aceptan que sus resultados no les permiten diferenciar si los efectos de la d-anfetamina son por un supuesto incremento en la velocidad del reloj o una falla en los mecanismos atencionales (Kraemer et al., 1997), este punto es crucial ya

que se introduce de manera abierta la posibilidad de que no sea un reloj el que altera la estimación temporal sino otro mecanismo relacionado con la dopamina como lo es la atención. El otro experimento lo realizó Bayley et al., en 1998 y muestra que tras la administración de la d-anfetamina en dosis de 0.5, 0.75 y 1.25 mg/kg i.m. se observa un incremento en la tasa y en los tiempos pico (Bayley et al., 1998), este hallazgo muestra evidencia contradictoria a la hipótesis dopaminérgica debido que observa un efecto opuesto en los tiempos pico, además contrario al grupo de Kraemer sus datos si reflejan el efecto de incremento en la tasa de respuesta así como un incremento en el ancho de los picos, lo que finalmente podría ser un reflejo del incremento en la Fracción de Weber (ver tabla 13).

En el presente experimento los resultados obtenidos ahondan las crecientes discrepancias con la hipótesis dopaminérgica debido a que tras la administración del agonista d-anfetamina en dosis de 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg i.p. se encontró que el efecto no es dosis dependiente, un incremento en la tasa de respuesta así como en la Fracción de Weber. La otra vertiente que permitió sustentar la hipótesis dopaminérgica fue sin duda el efecto mostrado tras la administración del antagonista dopaminérgico  $D_{2\text{LIKE}}$  haloperidol. Hay que recordar que estrictamente hablando el equipo de Maricq no administró el haloperidol en ratas entrenadas en procedimiento de pico sino en bisección temporal, pero algunos estudios han mostrado los efectos del haloperidol sobre la ejecución de los sujetos entrenados en procedimiento de pico. Drew et al. en 2003 mostraron que tras la administración del antagonista haloperidol en dosis de 0.04, 0.06 y 0.08 mg/kg i.p. no se observaron efectos sobre la tasa ni los tiempos pico (Drew et al., 2003). Este hallazgo pone duda la hipótesis dopaminérgica ya que la administración de un fármaco que disminuye la cantidad de

dopamina disponible, como el haloperidol, debería de enlentecer la velocidad del supuesto reloj, sin embargo no hubo efecto alguno. McDonald y Meck en el 2005 reevaluaron el efecto del haloperidol en dosis de 0.03, 0.06 y 0.12 mg/kg i.p. sobre la ejecución de los sujetos entrenados en el procedimiento de pico y hallaron que producía un decremento de los tiempos pico, sin embargo no analizan ninguna otra de las medidas que comúnmente se evalúan en este tipo de tarea. En otro estudio Buhusi y Meck evaluaron en procedimiento de pico con la introducción de vacíos temporales (GAP's) el efecto del haloperidol encontrando que tras la administración del haloperidol en dosis de 0.04 y 0.06 mg/kg i.p. no se observó ningún efecto significativo en la ejecución. Este hallazgo por el grupo que propone la hipótesis dopaminérgica resulta relevante ya que si el efecto del fármaco fuese enlentecer el reloj no debería de afectarse la ejecución aún con la presencia de los GAPs. Los resultados del presente estudio en cuanto a la replica de los hallazgos que fundamentaron la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal muestran que la d-anfetamina incrementa la tasa de respuesta, incrementa el ancho de los picos, incrementa la Fracción de Weber, y decrementa los tiempos pico. Si estos datos fueran analizados con los mismos parámetros que los datos originales tendríamos que confirmar la hipótesis dopaminérgica debido a que la d-anfetamina produjo un decremento de los tiempos pico, pero, al realizar un análisis más exhaustivo encontramos que el efecto sobre los tiempos pico no es dosis dependiente, además se observa un incremento estadísticamente significativo de la tasa de respuesta, así como en el ancho de los picos, lo que en conjunto resulta en un incremento de la Fracción de Weber. Este incremento de la Fracción de Weber refleja una insensibilidad al paso del tiempo lo que finalmente puede ser resultado de una alteración de los mecanismos atencionales y no en la estimación temporal. Con lo que respecta al haloperidol encontramos que no hay efectos significativos en ninguna de las

medidas evaluadas lo que no solo sigue poniendo en duda la hipótesis dopaminérgica sino que nos sugiere analizar más en extenso otros resultados antes de dar una conclusión final acerca del papel de la dopamina en la estimación temporal.

Estudios anteriores han evaluado en animales entrenados en procedimiento de pico la administración de agonistas dopaminérgicos  $D_{2\text{LIKE}}$  tales como la cocaína (Matell et al., 2004), la morfina (Knealing y Schaal, 2002), la quinpirola (Frederick y Allen, 1996), el metilfenidato (Eckerman et al., 1987) y antagonistas como la eticloprida (Frederick & Allen, 1996) y la clozapina (McDonald & Meck, 2005). En el caso de la cocaína, la cual es un agonista indirecto del sistema dopaminérgico, esta se administró en dosis de 6.4, 15.0 y 20.0 mg/kg y se encontró que decremента los tiempos pico, sin embargo no se evaluó ninguna otra medida (Matell et al., 2004). El metilfenidato que es otro agonista  $D_{2\text{LIKE}}$  no-específico administrado en dosis de 1.0, 3.0, 8.0 y 9.0 mg/kg i.p. también decremента los tiempos pico aunque tampoco se reporta ninguna otra medida (Eckerman et al., 1987). La morfina, la cual se ha descrito que interactúa con el sistema opioide y de manera indirecta (probablemente inhibiendo el sistema GABAérgico) provoca liberación de dopamina, se evaluó en esta tarea en dosis de 1.0, 3.0, 5.6 y 10.0 mg/kg i.p. y se encontró que los tiempos pico se reducían pero nuevamente no se reporta ninguna otra medida. Finalmente el agonista  $D_{2\text{LIKE}}$  quinpirola administrado en una sola dosis de 0.01 mg/kg i.p. produce un decremento del tiempo pico y al igual que en los estudios anteriores no se evalúa ninguna otra medida (Frederick y Allen, 1996). En el caso de los antagonistas se mostró que la dosis única de eticloprida (0.01 mg/kg i.p.) no produjo ningún efecto en esta tarea (Frederick y Allen, 1996). Este hallazgo pone nuevamente en entredicho la hipótesis dopaminérgica debido a que un fármaco que

produce un efecto similar al del haloperidol (decremento de dopamina) no produce efecto. Por otra parte los efectos de la clozapina en dosis de 0.6, 1.2 y 2.4 mg/kg i.p. fueron de decrementar los tiempos pico (McDonald & Meck, 2005). Este efecto resulta contradictorio para la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal, sin embargo, se ha descrito que la clozapina también interactúa con el sistema serotoninérgico (particularmente con los receptores 5-HT<sub>2A/C</sub>) lo que podría explicar este efecto contrario. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que tras la administración del agonista D<sub>2</sub>LIKE quinpirola se decremento la tasa de respuesta, se observó un incremento en los tiempos pico y ningún efecto sobre la Fracción de Weber; en primera instancia estos datos contradicen la hipótesis dopaminérgica debido a que este agonista produce un efecto similar al descrito con los antagonistas (incremento de los tiempos pico), aunque en realidad no necesariamente es un efecto contradictorio debido al tipo de estimulación logrado con las dosis evaluadas. Es decir, se ha descrito que a bajas dosis (0,01 – 0,1 mg/kg) la quinpirola estimula preferencialmente receptores presinápticos (Cory-Slechta, et al., 1996) lo que provoca una disminución de la dopamina disponible en el espacio intersináptico lo que puede ser interpretado como un efecto análogo al ocasionado por los antagonistas. Sin embargo, aún falta aclarar el porque a Frederick y Allen en 1996 observaron un decremento de los tiempos pico si la dosis que ellos evalúan esta descrita como preferencialmente presináptica (retomaremos esto en la evaluación de la estimación temporal retrospectiva). En el caso del antagonista D<sub>2</sub>LIKE sulpirida se puede observar que tiene el efecto de decrementar la tasa de respuesta, y de decrementar los tiempos pico sin alterar la Fracción de Weber. Este resultado es congruente con el supuesto de que una disminución de los niveles de dopamina produce un decremento en la velocidad del supuesto reloj, aunque en este momento no se lo podemos atribuir ningún subtipo de receptor de la familia

D<sub>2</sub>LIKE debido a lo inespecífico de los fármacos evaluados. Si los diversos grupos evaluarán todas las medidas nos permitirían hacer un juicio acerca de si los efectos son sobre mecanismos atencionales o temporales.

Dentro de esta familia (D<sub>2</sub>LIKE) desgraciadamente no han sido evaluados de manera individual todos los subtipos de receptores lo que dificulta aún más la interpretación de la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal. Es por eso que los hallazgos que a continuación citaré solo han sido de nuestro laboratorio. La administración del agonista D<sub>3</sub> 7-OH-DPAT produce un efecto de decremento de la tasa pico, un incremento de los tiempos pico y las Fracciones de Weber. Este resultado podría llevar a pensar en que los receptores D<sub>3</sub> estarían estrechamente relacionados con este tipo de estimación temporal, sin embargo hay que mencionar que las dosis que se evaluaron estimulan preferencialmente receptores presinápticos (Sutton, et al., 2001) lo que finalmente se refleja en un decremento de la dopamina disponible. Además hay que recordar que se observó un incremento estadísticamente significativo de la Fracción de Weber lo que se ha descrito como un fallo en los mecanismos atencionales. La evaluación de los receptores D<sub>4</sub> no arrojó ningún resultado significativo en las medidas evaluadas por lo que por lo menos en este tipo de estimación temporal descartamos la participación de este subtipo de receptores.

Tabla 13: Efecto de fármacos dopaminérgicos sobre la ejecución en procedimiento de pico

| Fármacos                | Selectividad        | Actividad | Dosis                                  | Tarea | Resultado           | Sensibilidad (FW, spread) | Autor                    |
|-------------------------|---------------------|-----------|--|-------|---------------------|---------------------------|--------------------------|
| d-<br><u>anfetamina</u> | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista  | 0.3, 1.0<br>y 2.0<br>mg/kg<br>i.m.     | PP    | Decremento<br>en TP | No descrito               | Kraemer,<br>et al., 1997 |
| d-<br><u>anfetamina</u> | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista  | 0.5,<br>0.75 y<br>1.5<br>mg/kg<br>s.c. | PP    | Incremento<br>en TP | Incrementa<br>spread      | Bayley, et<br>al., 1998  |
| d-                      | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista  | 1.0 y                                  | PP    | Decremento          | No descrito               | Eckerman,                |

|                        |                     |             |                              |        |                  |             |                         |
|------------------------|---------------------|-------------|------------------------------|--------|------------------|-------------|-------------------------|
| <u>anfetamina</u>      |                     |             | 3.0 mg/kg i.p.               |        | en TP            |             | et al., 1987            |
| <u>Meta anfetamina</u> | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.4 y 0.6 mg/kg i.p.         | PP Gap | Sin efecto       | No descrito | Buhusi & Meck, 2002     |
| <u>Meta anfetamina</u> | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.125 ml de 5 mg/ml s.c.     | PP     | Decremento en TP | No descrito | Maricq, et al., 1981    |
| <u>Quinpirola</u>      | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.01 mg/kg i.p.              | PP     | Decremento en TP | No descrito | Frederick & Allen, 1996 |
| <u>SKF 38393</u>       | D <sub>2</sub>      | Agonista    | 1.0 mg/kg i.p.               | PP     | Decremento en TP | No descrito | Frederick & Allen, 1996 |
| <u>Morfina</u>         | Inespecifico DA     | Agonista    | 1, 3, 5.6 y 10 mg/kg i.p.    | PP     | Decremento en TP | No descrito | Knealing y Schaal, 2002 |
| <u>Haloperidol</u>     | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.04 y 0.06 mg/kg i.p.       | PP Gap | Sin efecto       | No descrito | Buhusi & Meck, 2002     |
| Haloperidol            | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.03, 0.06 y 0.12 mg/kg i.p. | PP     | Incremento en TP | No descrito | McDonald & Meck, 2005   |
| <u>Eticloprida</u>     | D <sub>1</sub>      | Antagonista | 0.01 mg/kg i.p.              | PP     | Sin efecto       | No descrito | Frederick & Allen, 1996 |
| <u>SCH 23390</u>       | D <sub>1</sub>      | Antagonista | 0.01 mg/kg i.p.              | PP     | Sin efecto       | No descrito | Frederick & Allen, 1996 |
| SCH 23390              | D <sub>1</sub>      | Antagonista | 0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg i.p.   | PP     | Incremento en TP | Incremento  | Drew, et al., 2003      |

Tabla 13: Se pueden observar los efectos de diversos fármacos dopaminérgicos sobre la ejecución de sujetos entrenados en la tarea de procedimiento de pico (PP). De izquierda derecha las columnas muestran: el nombre de los compuestos, su selectividad, actividad, las dosis empleadas, el procedimiento, una medida de tendencia central (Tiempo Pico), una de sensibilidad (Fracción de Weber) y el autor. Los datos reportados en la tabla son el tiempo pico (TP), la Fracción de Weber (FW) o el Spread

La estimulación de los receptores D<sub>1</sub>LIKE ha sido evaluada por al menos dos grupos de investigación e incluye la administración del agonista SKF 38393 (Frederick y Allen, 1996) y del antagonista SCH 23390 (Drew et al., 2003; Frederick y Allen, 1996). En primer lugar, se observó que la administración del agonista SKF 38393 decremó los tiempos picos; sin embargo, solo fue evaluada una sola dosis y no reportan ninguna otra medida asociada a la ejecución de los sujetos.

Con lo que respecta a los antagonistas a este subtipo de receptores se observó que mientras Frederick y Allen no encontraron efecto tras la administración del SCH 23390, Drew et al. reportaron un incremento de los tiempos pico aunque tampoco reportan ninguna otra medida. Esta discrepancia en cuanto a los efectos reportados posiblemente es debida a las dosis evaluadas ya que el primer grupo de investigadores solo evaluó una dosis de 0,01 mg/kg mientras que el segundo grupo partió de 0,05 y llegó hasta 0,2 mg/kg. La dosis tan pequeña utilizada por parte de Frederick y Allen indica que no utilizaron las dosis adecuadas para interactuar con sus sitios de unión. Los resultados obtenidos en el presente experimento tras la administración del agonista  $D_{1\text{LIKE}}$  6-Cloro PB no permiten confirmar los hallazgos de Frederick & Allen debido a que se observó un decremento en los tiempos pico, hubo un decremento en la tasa pico y un incremento en la Fracción de Weber. Esto lo que nos indica es que hasta este momento es necesario una evaluación más profunda de este subtipo de receptores debido a que la controversia no solo radica en los resultados observados sino en que, molecularmente las dos familias de receptores se acoplan diferencialmente a proteínas G ya que mientras que la familia  $D_{1\text{LIKE}}$  se acopla a una proteína  $G_s$  la familia  $D_{2\text{LIKE}}$  se acopla a una proteína  $G_i$ . Por otra parte la estimulación de los receptores  $D_{2\text{LIKE}}$  ha mostrado que hasta el momento no podemos afirmar que algún subtipo de receptor participe de manera principal en los mecanismos de estimación temporal debido a que el único dato congruente que se ha hallado es el que los bajos niveles de dopamina (ya sea por activación de receptores presinápticos o por bloqueo de receptores postsinápticos mediante antagonistas) afectan la ejecución de los sujetos en un nivel que bien podría ser atencional y no temporal (ver tabla 14), sin embargo falta todavía analizar la evidencia obtenida en el programa de estimación temporal retrospectiva.

Tabla 14: Efecto de la administración de fármacos dopaminérgicos sobre la estimación temporal.

| Fármaco     | Selectividad                    | Procedimiento de pico |             |       |                        | Bisección temporal |       |                             |
|-------------|---------------------------------|-----------------------|-------------|-------|------------------------|--------------------|-------|-----------------------------|
|             |                                 | Tasa Pico             | Tiempo pico | Limén | Fracción de Weber Pico | Punto de Bisección | Limén | Fracción de Weber Bisección |
| Anfetamina  | Agonista D <sub>2</sub> LIKE    | ↑                     | ↓*          | ↑     | ↑                      | ↓*                 | ↑     | ↑                           |
| Quinpirola  | Agonista D <sub>2</sub> LIKE    | ↓                     | ↑           | =     | =                      | ↑                  | ↑     | ↑                           |
| 7-OH-DPAT   | Agonista D <sub>3</sub>         | ↓                     | ↑           | ↑     | ↑                      | ↑                  | ↑     | ↑                           |
| PD 168077   | Agonista D <sub>4</sub>         | =                     | =           | =     | =                      | ↓                  | =     | =                           |
| 6 Chloro PB | Agonista D <sub>1/5</sub>       | ↓                     | =           | ↑     | ↑                      | =                  | =     | =                           |
| Haloperidol | Antagonista D <sub>2</sub> LIKE | ↓                     | =           | =     | ↑                      | ↓                  | ↑     | ↑                           |
| Sulpirida   | Antagonista D <sub>2</sub>      | ↓                     | ↑*          | =     | =                      | ↑*                 | ↑     | ↑                           |

Tabla 14: Efecto de los diversos fármacos dopaminérgicos en la estimación temporal inmediata (procedimiento de pico) y retrospectiva (bisección temporal) sobre las Fracciones de Weber, limén, puntos de bisección, tasas pico y tiempos pico. Los resultados que arrojaron un incremento estadísticamente significativo con respecto a las condiciones control se simbolizan con una ↑ ( $p < 0.05$ ), los resultados que mostraron un decremento significativo con respecto a las condiciones control se simbolizan con una ↓ ( $p < 0.05$ ) mientras que en los resultados donde no hay efecto significativo se simboliza con = ( $p > 0.05$ ). Con asteriscos se marcan los resultados acordes con SET.

## **SISTEMA DOPAMINÉRGICO**

### **ESTIMACIÓN TEMPORAL RETROSPECTIVA**

Así como el intervalo puede ser medido en el momento mismo en que esta transcurriendo se ha propuesto que el organismo puede conducirse adecuadamente por la estimación de los intervalos que ya han ocurrido o que terminan con la ocurrencia de un evento. Esta habilidad fue designada dentro de la nomenclatura de Killeen y Fetterman (1988) como estimación temporal retrospectiva. Este tipo de estimación principalmente ha sido evaluada con el procedimiento de bisección temporal el cual fue propuesto en 1968 por Stubbs. En este estudio propone que los intervalos pueden ser utilizados como propiedades discriminativas de los estímulos y que esta propiedad permite a los organismos emitir respuestas diferenciales dependiendo del tiempo que ya ha transcurrido. Estas respuestas fueron analizadas mediante una aproximación psicofísica y evaluadas mediante las leyes que la rigen. En este estudio se entrenó a pichones a discriminar entre duraciones "cortas" y duraciones "largas". Al inicio del experimento la tecla central encendía de color naranja indicando el inicio del ensayo mientras que las teclas laterales permanecían apagadas. La primera respuesta en la tecla central cambiaba la luz de naranja a blanco. Esta permanecía encendida por el intervalo a estimar (que podía ser corto o largo). Una vez que el intervalo había pasado la tecla central se apagaba y se iluminaban las teclas laterales de distinto color entre si (verde o rojo). Las duraciones de la tecla central se agruparon en cortas (1, 2, 3, 4 y 5 sec) y largas (6, 7, 8, 9 y 10 sec) cada duración variaba de manera no secuencial a lo largo de la sesión. Las contingencias asociadas a verde o rojo dependían de la duración del intervalo de la tecla central, es decir, para el grupo 1 las duraciones cortas eran asociadas con la tecla verde y las

duraciones largas eran asociadas con la tecla roja (para el grupo 2 dos se invertían las condiciones). Cada respuesta correcta era seguida de un reforzador condicionado o comida. El reforzador comida aparecía después de seis ensayos correctos consecutivos y consistía en el apagado de las luces laterales y central, la iluminación del comedero y exposición a comida durante 5 sec. El reforzador condicionado consistía en el apagado de las teclas laterales y central y la iluminación del comedero por 0.5 sec. Las respuestas incorrectas no producían reforzamiento e iniciaban un tiempo fuera en el cual se apagaban todas las luces y comenzaba un nuevo ensayo. Después de cada reforzador condicionado, comida o tiempo fuera, la tecla central volvía a encender de color naranja indicando el inicio de un nuevo ensayo. En este mismo estudio se evaluaron otras duraciones (2-20 y 4-40) encontrándose que la ejecución de los sujetos era similar y que permitía reconocer a este procedimiento como una buena herramienta que brinda información acerca de los procesos cognitivos de otras especies. Además este trabajo dejó claro que la ejecución de los sujetos era similar aun cuando los estímulos a evaluar eran distintos y la que la distribución de las respuestas era ordenada ajustándose a la ley de Weber; lo que entonces permite obtener al menos tres mediciones importantes: 1) una medida de tendencia central llamada punto de bisección o de indiferencia subjetiva, el cual marca el punto donde los sujetos responden de manera aleatoria ante un estímulo intermedio (comúnmente la media geométrica); 2) una primera medida de dispersión, el limen, la cual se refiere a la relación entre los umbrales superior e inferior y, 3) la Fracción de Weber la cual refleja la sensibilidad de los sujetos al paso del tiempo. Actualmente el procedimiento original se ha mantenido como una de las principales herramientas para evaluar los procesos de estimación temporal inmediata. Según la teoría SET la alteración de los mecanismos de estimación temporal tendrá incidencia sobre las funciones psicométricas y los

puntos de bisección reduciendo los puntos y desplazando hacia la izquierda si hay aceleración del reloj e incrementando los puntos de bisección y desplazando las funciones psicométricas hacia la derecha si hay enlentecimiento. Estos cambios deberían de ocurrir sin alterar la Fracción de Weber ni modificar las funciones psicométricas.

El principal hallazgo con este procedimiento en relación al sistema dopaminérgico lo mostró Maricq en 1981. En este estudio la administración de la meta-anfetamina fue en una sola dosis de 1.5 mg/kg s.c. y se observó que las funciones psicométricas se desplazaban hacia la izquierda siendo esto un supuesto indicador de la aceleración del reloj hipotético. Este hallazgo fue evaluado por este mismo grupo de investigación en 1983 y se observó que la dosis de 1.0 mg/kg s.c. replicaba el hallazgo del estudio anterior, es decir, se decrementaban los puntos de bisección (lo cual se veía en el recorrimiento de las funciones psicométricas hacia la izquierda). Además de este fármaco también fue evaluado el antagonista  $D_{2\text{LIKE}}$  haloperidol y se encontró que sus efectos eran opuestos a los observados tras la administración de la meta-anfetamina, es decir, las funciones se recorrían hacia la derecha incrementando los tiempos de bisección. Este hallazgo fue explicado en términos de modificación de la velocidad del supuesto reloj dependiendo de la actividad del fármaco ya que el fármaco agonista aceleraba mientras que el antagonista deceleraba (Maricq & Church, 1983). En conjunto esta serie de experimentos trajo consigo la consolidación de la hipótesis dopaminérgica. Sin embargo, existe al menos una evidencia anterior al grupo de Maricq donde se evaluó el efecto de un agonista dopaminérgico  $D_{2\text{LIKE}}$  (la d-anfetamina en dosis de 0.1 y 1.6 mg/kg i.p.) en un procedimiento de bisección y se encontró que tras la administración de la d-anfetamina se había producido un aplanamiento de las funciones psicométricas, que los efectos no eran dosis

dependientes y que había un incremento en la tasa de respuesta por lo que se concluyó que cabía la posibilidad de que fuera otro mecanismo distinto al de estimación temporal el que estuviera mediando el efecto observado (Rapp & Robbins 1976). Este artículo aún cuando propone evaluar más detenidamente el efecto producido por la d-anfetamina, tomando en cuenta un posible mecanismo alternativo al incremento de las funciones temporales no es interpretado de esta manera por Maricq et al. ya que finalmente proponen la modulación dopaminérgica sin evaluar adecuadamente cada parámetro. Posterior a estos estudios un gran número de grupos de investigación se dieron a la tarea de confirmar esta hipótesis usando agonistas  $D_{2\text{LIKE}}$  como la meta-anfetamina (Cevic, 2003); morfina (Odum y Schaal, 2000); d-anfetamina (Chiang et al., 2000; Odum et al., 2000; McClure, 2005); quinpirola (Santi et al., 2001; Harper et al., 2006); amineptina (Lejune et al., 1995) y los antagonistas  $D_{2\text{LIKE}}$  eticloprida (Harper, 2006); clorpromazina (Meck, 1983); amineptina (Lejune, 1995); pimozida (Meck, 1983) y haloperidol (Meck, 1983).

Dentro de estos estudios uno de los problemas más importantes es que la supuesta aceleración del reloj tras la administración de agonistas dopaminérgicos no ha sido clara ya que se han encontrado los tres resultados posibles: un decremento de los puntos de bisección, un incremento de los puntos de bisección y una ausencia de efecto. Los estudios que han logrado replicar con éxito los hallazgos originales (decremento en los puntos de bisección) básicamente son del mismo grupo que postuló originalmente la hipótesis dopaminérgica (Meck, 1986; Meck, 1996; Buhusi & Meck, 2002; Maricq & Church, 1983). Esta dificultad en cuanto a la replicación de los hallazgos originales ha llevado a este grupo a proponer algunos mecanismos alternativos, como son la participación del sistema glutamatérgico (McDonald & Meck, 2005); del sistema cerebelar y corteza prefrontal

(Buhusi & Meck, 2005); sin embargo algunas de estas propuestas hechas por este grupo ya habían sido publicadas en estudios anteriores (Breukelar, 1999; Odum, 2002).

En el estudio realizado por Chiang et al., en el 2000 se encontró que tras la administración de la d-anfetamina en dosis de 0.2, 0.4 y 0.8 mg/kg en ratas entrenados a discriminar un estímulo de 2s vs 8 s, hay efecto significativo sobre la Fracción de Weber y aunque incrementa el punto de bisección este resultado no fue estadísticamente significativo. Sin embargo aún cuando no hay significancia estadística si hay un efecto dosis dependiente y un efecto que no es el descrito por los estudios originales de la hipótesis dopaminérgica. Otro estudio que no comparte lo obtenido en cuanto a la hipótesis dopaminérgica es el de Odum et al. en 2002 ya que pichones entrenados en una tarea de discriminación temporal (5s vs 30s) se encontró que la d-anfetamina (0.1, 0.3 1.0 y 3.0 mg/kg i.m.) produjo un incremento de las tasas bajas de respuesta así como un decremento de las tasas altas lo que finalmente resulto en un aplanamiento de las funciones asociadas con la ejecución de los organismos y que reflejó que un deterioro de la conducta en el tiempo y no un incremento en el supuesto reloj hipotético (Odum et al., 2002). Por otra parte, McClure et al. en 2005 tras la administración de d-anfetamina en dosis de 0.75, 1.5, 2.25 y 3.0 mg/kg i.m. confirmó los hallazgos del equipo de Odum ya que no reportaron efecto alguno en los puntos de bisección pero si observaron un aplanamiento de las funciones obtenidas lo que este grupo interpretó como una falla en el control de estímulos inducido por el fármaco (McClure et al., 2005). Con lo que respecta a los resultados obtenidos tras la administración del antagonista haloperidol el hallazgo reportado por Maricq y Church en 1983 mostró que tras la administración de una sola dosis de haloperidol (0.12 mg/kg s.c.) se observó un incremento en los puntos de bisección, resultado que era opuesto al obtenido tras la administración del agonista meta-anfetamina. Este resultado completo de manera

lógica un supuesto fisiológico compatible con la aceleración de un supuesto reloj interno ya que mientras un fármaco agonista provocaba un incremento en la liberación de la dopamina (meta-anfetamina) y provocaba un desplazamiento de las funciones psicométricas hacia la izquierda (un decremento en los puntos de bisección), un fármaco antagonista (haloperidol) provocaba por un lado la disminución de la dopamina disponible y un desplazamiento hacia la derecha de las funciones psicométricas (incremento en los puntos de bisección). Este resultado fue confirmado por Meck en 1986 ya que tras la administración de antagonistas  $D_{2\text{LIKE}}$  (haloperidol, clorpromazina y pimozida) se observó un incremento en los puntos de bisección y fue interpretado como confirmación de la deceleración del reloj con antagonistas dopaminérgicos. Los resultados del presente estudio al hacer la replicación de los estudios originalmente descritos en bisección temporal no apoyan la hipótesis dopaminérgica y si confirman los hallazgos de Odum. Esto debido a que tras la administración de la d-anfetamina aunque se observó un decremento en los puntos de bisección este resultado no fue significativo además que no se observa un efecto dosis-dependiente y si se observa con la dosis de 1.0 mg/kg el aplanamiento de las funciones obtenidas. Por otra parte tras la administración del antagonista haloperidol se observó que solo las dos primeras dosis (0.03 y 0.1 mg/kg) incrementaron los puntos de bisección ya que la dosis más alta (0.3 mg/kg) los decremento y aunque estos resultados tampoco fueron estadísticamente significativos, revelan que no hay congruencia en cuanto los efectos reportados en la hipótesis dopaminérgica. Además que se encontró que las Fracciones de Weber si mostraron diferencias significativas y que las funciones mostraron un aplanamiento pronunciado conforme incrementaba la dosis. Para poder comprobar si los efectos contradictorios del antagonista podrían deberse a un decremento de la movilidad del organismo se evaluó el agonista no-selectivo sulpirida encontrando

que incrementó los puntos de bisección; sin embargo, aplanó las funciones psicométricas lo que finalmente concuerda con efectos sobre sistemas atencionales y no en la velocidad del supuesto reloj.

Otro de los problemas que ha tenido la hipótesis dopaminérgica es que no se han evaluado de manera selectiva los distintos subtipos de receptores en sujetos entrenados en bisección temporal ya que la mayoría de los estudios han usado fármacos agonistas no selectivos como la meta-anfetamina (Maricq et al., 1981; Maricq & Church, 1983; Cevic, 2003), la d-anfetamina (Chiang et al., 2000; Odum et al., 2002; McClure 2005) y la quinpirola (Santi et al., 2001; Harper et al., 2006) o antagonistas no selectivos como la amineptina (Lejune et al., 1995), eticloprida (Harper, 2006), clorpromazina, pimozida y haloperidol (Meck 1986) (ver tabla 15).

Tabla 15: Efecto de agonistas dopaminérgicos en la tarea de bisección temporal

| Fármacos        | Selectividad        | Actividad   | Dosis                            | Tarea | Resultado                      | Sensibilidad (FW, spread) | Autor                 |
|-----------------|---------------------|-------------|----------------------------------|-------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| d-anfetamina    | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.1, 0.3, 1.0 y 3.0 mg/kg i.m.   | BT    | Sin efecto                     | No descrito               | Odum, et al., 2002    |
| d-anfetamina    | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.2, 0.4 y 0.8 mg/kg             | BT    | Incremento en PB               | Incremento                | Chiang, et al., 2000  |
| d-anfetamina    | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.75, 1.5, 2.25 y 3.0 mg/kg i.m. | BT    | Sin efecto                     | Incremento                | McClure et al., 2005  |
| d-anfetamina    | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.1 1.6 mg/kg i.p.               | BT    | Sin efecto                     | No descrito               | Rapp & Robbins, 1976  |
| Meta anfetamina | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.5, 1.0 y 1.5 mg/kg s.c.        | BT    | Decremento en PB               | No descrito               | Cevic, 2003           |
| Meta anfetamina | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 1.0 mg/kg s.c.                   | BT    | Decremento en PB               | Incremento                | Maricq & Church, 1983 |
| Meta anfetamina | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 1.5 mg/kg s.c.                   | BT    | Decremento en PB               | Incremento                | Maricq, et al., 1981  |
| Quinpirola      | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.08 mg/kg i.p.                  | BT    | Incremento en PB               | Sin efecto                | Santi, et al., 2001   |
| Quinpirola      | D <sub>2</sub> LIKE | Agonista    | 0.0125, 0.05, y 0.075 mg/kg i.p. | BT    | Disminuye la discriminabilidad | No descrito               | Harper, et al., 2006  |
| Haloperidol     | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.025 > mg/kg                    | BT    | Incremento en PB               | No descrito               | Meck, 1986            |

|               |                     |             | i.p.                             |    |                                |             |                       |
|---------------|---------------------|-------------|----------------------------------|----|--------------------------------|-------------|-----------------------|
| Haloperidol   | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.12 mg/kg s.c.                  | BT | Incremento en PB               | Incremento  | Maricq & Church, 1983 |
| Clorpromazina | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.025 > mg/kg i.p.               | BT | Incremento en PB               | No descrito | Meck, 1986            |
| Eticloprida   | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.0125, 0.05, y 0.075 mg/kg i.p. | BT | Disminuye la discriminabilidad | No descrito | Harper, et al., 2006  |
| Pimozida      | D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista | 0.025 > mg/kg i.p.               | BT | Incremento en PB               | No descrito | Meck, 1986            |
| Amineptina    | Inespecífico DA     | Antagonista | 5, 10 y 20 mg/kg i.p.            | BT | Sin efecto                     | Sin efecto  | Lejune, et al., 1995  |

Tabla 15: Se pueden observar los efectos de diversos fármacos dopaminérgicos sobre la ejecución de sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal (BT). De izquierda derecha las columnas muestran: el nombre de los compuestos, su selectividad, actividad, las dosis empleadas, el procedimiento, una medida de tendencia central, una de sensibilidad y el autor. Los datos reportados en la tabla son los puntos de bisección (PB) y la Fracción de Weber (FW).

Con lo que respecta a la administración del agonista no selectivo D<sub>2</sub>LIKE quinpirola, Santi et al. en el 2001 encontraron que la administración de quinpirola en dosis de 0.8 mg/kg i.p. produjo un incremento de los puntos de bisección lo que resulta congruente con el supuesto de que a dosis bajas (0.01 – 0.1 mg/kg) de este fármaco se estimulan preferencialmente receptores presinápticos, por lo que el efecto esperado es un decremento en la dopamina disponible teniendo como consecuencia que decrementaría la velocidad del supuesto reloj, sin embargo, una explicación análoga la ofrece Harper et al (2006) ya que describieron que la administración de quinpirola en dosis de 0.0125, 0.05 y 0.75 i.p. disminuye la discriminabilidad y se lo atribuyen a la cantidad de dopamina disponible. En el presente estudio se observó un incremento de los puntos de bisección, lo que es congruente, ya que las dosis empleadas (0.01, 0.03 y 1.0 mg/kg) se encuentran el rango de las que se ha descrito estimulan receptores presinápticos (Cory-Slechta, 2001), sin embargo, hay un incremento significativo de las Fracciones de Weber así como un aplanamiento de las curvas lo que en última instancia apoya a Harper ya que el incremento de la Fracción de Weber refleja insensibilidad al paso del tiempo.

Con lo que respecta a la estimulación de los receptores  $D_3$  no hay evidencia aún en la literatura acerca de la participación de este subtipo de receptores en la estimación temporal, sin embargo, si se sabe que a dosis bajas del agonista 7-OH-DPAT (0.01 a 0.3 mg/kg) se estimula preferencialmente receptores presinápticos (Sutton et al., 2001) y a dosis altas (0.3 a 3.0 mg/kg) receptores postsinápticos (Sutton et al., 2001; Zuch y Cory-Slechta, 2001). Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que por la estimulación de los receptores presinápticos del subtipo  $D_3$  se observa un decremento en los tiempos pico y en los puntos de bisección, lo que concuerda con la disminución de la dopamina disponible. A diferencia de los resultados con haloperidol, con el 7-OH-DPAT se observaron resultados dosis dependientes en los puntos de bisección, sin embargo en las Fracciones de Weber se incrementaron de manera estadísticamente significativa.

La evaluación de los receptores  $D_4$  se realizó mediante la administración del agonista PD 168077. Se puede observar que el efecto del fármaco fue decrementar los puntos de bisección sin alterar las fracciones de Weber ni el limen. Sin embargo en el procedimiento de pico este fármaco no produce efecto en ninguna de las mediadas evaluadas lo que nos permite inferir un efecto preferencial en las tareas de estimación temporal retrospectiva ya que solo en esta tarea se observó un efecto sobre los puntos de bisección con la dosis de 0.03 mg/kg por lo que apoya la hipótesis de mecanismos diferenciales dependiendo del tipo de estimación temporal que se este evaluando (ver tabla 14). Sin embargo es necesaria una evaluación más exhaustiva para poder confirmar la participación diferencial de este subtipo de receptor.

Finalmente podemos inferir que los receptores  $D_{1LIKE}$  no participan en la regulación temporal debido a la ausencia de efectos significativos en las medidas evaluadas (ver tabla 14).

Los resultados observados tras la administración de diversos fármacos dopaminérgicos en la tarea de procedimiento de pico y bisección temporal no confirman la hipótesis dopaminérgica ya que aún cuando si se observaron efectos de 55decremento de los tiempos pico estos no fueron dosis dependientes; además se observaron alteraciones importantes en las fracciones de Weber, lo que requiere de una explicación alternativa. Por otra parte la disminución de la dopamina disponible ya sea por bloqueo de los receptores mediante antagonistas o estimulación de receptores presinápticos por agonistas incrementa los puntos de bisección, pero modifica las Fracciones de Weber lo que podría estar involucrando otro sistema de neurotransmisión distinto al de propuesto por los trabajos originales de estimación temporal. Sin embargo también podría indicar que hay más de un sistema de neurotransmisión involucrado en la estimación temporal.

## **SISTEMA SEROTONÉRGICO**

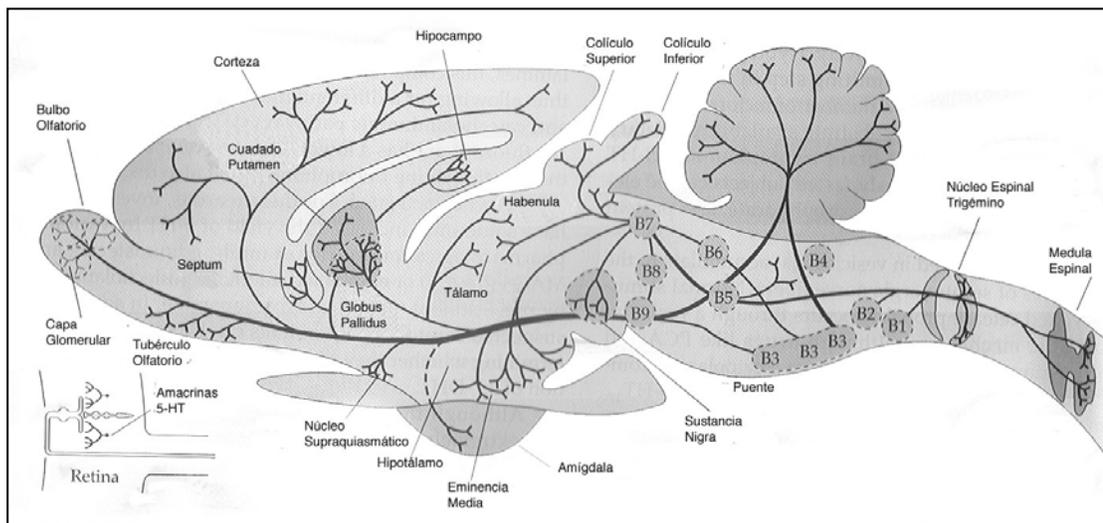
### **ESTIMACIÓN TEMPORAL INMEDIATA**

Los primeros hallazgos acerca de la participación de mecanismos serotoninérgicos en la estimación temporal no surgen en los procedimientos de bisección temporal y pico, sino de evidencias acerca del papel de la serotonina en ansiedad y el suicidio. Asberg en 1976 encuentra que pacientes con tendencias suicidas y poca tolerancia muestran bajos niveles de serotonina (citado en Evenden, 1999). Soubrie en 1986 pone en evidencia que sujetos que presentan bloqueo de la actividad serotoninérgica toleran más las demoras entre reforzadores (Soubrie, 1986). Posteriormente Bizot y Thiebot (1993) describieron que tareas que requieren un procesamiento cognitivo se ven afectadas por el sistema serotoninérgico específicamente aquellas que involucran demoras en la entrega de los reforzadores. Finalmente Bizot evaluó la ejecución de sujetos entrenados en una tarea de demora del reforzador y encontró que tras la administración de fármacos que incrementan la cantidad de serotonina (desipramina, clomipramina, maprotilina, indalpina, zimelidina, nialamida, clenbuterol) los organismos preferían los reforzadores grandes demorados en lugar de los pequeños inmediatos por lo que se propuso que el sistema serotoninérgico podría estar regulando un sistema temporal. Sin embargo, aún con esta evidencia no se ha estudiado a gran escala la función del sistema serotoninérgico en los mecanismos de estimación temporal en el rango de segundos a minutos.

Los primeros estudios de estimación temporal en el rango de segundos a minutos y serotonina se relacionan con la destrucción de las vías ascendentes serotoninérgicas. Las vías serotoninérgicas se originan a partir de un pequeño grupo de núcleos ubicados en el tallo cerebral; estos núcleos

inervan hacia las porciones anterior y posterior por la vía del tallo cerebral medial. Estos núcleos son llamados los núcleos del rafé. Originalmente estos núcleos fueron llamados B1 – B9 posteriormente fueron distribuidos en el sistema caudal (B1 – B4) y el sistema rostral (B5 – B9). Los axones del sistema caudal descienden a través de la médula espinal. Algunas de estas proyecciones (principalmente del núcleo del rafé magnus, B3) atraviesan el fascículo dorsolateral y termina en la materia gris de las astas dorsales de médula espinal, particularmente en la lámina 1 y 2. Una segunda vía descendente que se origina desde el núcleo del rafé pallidus (B1) y del núcleo del rafé obscurus (B2 y B4) termina en la neuronas motoras del las astas ventrales. Finalmente algunas de las células de la porción rostralateral de la médula (B3) inervan células preganglionares simpáticas en las columnas intermediolaterales de la parte torácica de la médula espinal. Estas vías se encargan de modular información sensorial, motora y autónoma relacionada con la serotonina. El sistema rostral de la serotonina comprende los grupos celulares originalmente llamados B5 – B9. Estos grupos se encuentran distribuidos en los núcleos del rafé del puente y mesencéfalo así como en el núcleo de la línea cuada, el núcleo pontis oralis y la región supraleminiscal. Se ha mostrado que los núcleos del rafé de dorsal y medial proporcionan el 80% de las terminales serotoninérgicas del tallo cerebral. Además se ha mostrado que existen dos vías ascendentes de mayor importancia en el sistema serotoninérgico, la vía ventral y dorsal. Las vías ascendentes ventrales se originan primariamente en los núcleos B6 – B8 y proyecta numerosas proyecciones al diencefalo, ganglios basales, sistema límbico y corteza. Estas fibras serotoninérgicas pasan a través del cerebro medio, donde inervan la sustancia *nigra*, el área ventral tegmental y el núcleo interpendeuncular. La mayor parte de de las vías ventrales entra en el porción medial del tallo cerebral desde donde se distribuyen en distintas direcciones. Las proyecciones del diencefalo

terminan en la habénula medial, núcleos talámicos, los cuerpos mamilares, el núcleo hipotálmico posterior, el núcleo supraquiasmático y el área preóptica medial. Otras fibras inervan el estriado



dorsal y ventral (caudado putamen y núcleo *accumbens*), el complejo amigdalino, la formación hipocampal, los núcleos septales, partes del sistema olfatorio y todas las regiones de la neocorteza. Las proyecciones serotonérgicas corticales muestran una distribución laminar no uniforme y en algunos casos son complementarias al sistema noradrérgico. Las vías ascendentes ventrales emanan principalmente de B7 y B8. Estas envían fibras hacia el mesencéfalo, así como a los colículos inferior y superior. Finalmente han sido descritas otras dos vías ascendentes serotonérgicas. La primera de ellas es la vía que proyecta al cerebelo que termina en la corteza cerebelosa y en los núcleos cerebelosos profundos. Esta proyección se alimenta principalmente de los núcleos B1, B3 y B5. La segunda es una proyección muy extensa que inerva a varias estructuras del puente y la médula. Estas estructuras incluyen el núcleo inferior de la oliva, el locus coeruleus, núcleo dorsal tegmental, núcleo solitario, la formación reticular y el nervio trigémino (Figura 5) (Feldman et al., 1997).

Figura 5: Localización de los cuerpos celulares y vías serotonérgicas en el SNC de la rata. Los cuerpos de las células serotonérgicas se encuentran contenidos en los grupos celulares B (Tomado de Feldman et al., 1997).

En un estudio Wogar et al. en 1992 describe una serie de hallazgos donde la destrucción de las vías serotoninérgicas tras la administración de la neurotoxina 5,7-HT retarda la adquisición del control temporal en un programa de reforzamiento diferencial de intervalos entre respuestas (IRT's) y después de varias sesiones de entrenamiento se observa un coeficiente variación alto en comparación de los grupos de lesión falsa (Wogar et al., 1992a). Sin embargo, en animales ya entrenados en IRT's se encontró que el número de IRT's cortos incrementaba significativamente además de afectar la discriminabilidad (Wogar et al., 1992). Estos hallazgos fueron replicados por Fletcher et al. en 1996 encontrando que los efectos que se mostraron tras la ablación total de las vías serotoninérgicas se replicaban si se destruía selectivamente los núcleos mediales del rafe y no los núcleos dorsales (Fletcher et al., 1996). Consistente con los estudios de lesión, Fletcher en 1994 y 1996 muestra que tras la administración del agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT inyectado directamente en el núcleo del rafe medial, se altera la ejecución de sujetos entrenados en una tarea de IRT's, reduciendo la media de IRT's e incrementando la variabilidad. Este efecto no se observaba si la microinyección se realizaba en el núcleo del rafe dorsal. Morrisey et al. en 1994 muestra que la destrucción de las vías ascendentes serotoninérgicas en ratas entrenadas en el procedimiento de pico mostraban un pico semejante al observado en los sujetos con lesión falsa. Sin embargo el ancho de los picos (spread) fue más grande en comparación con el grupo de lesión falsa lo que finalmente se reflejó en un incremento de la Fracción de Weber. Cuando se evaluó la ejecución de los sujetos durante las sesiones de entrenamiento en el procedimiento de pico se encontró que en las fases iniciales del entrenamiento la tasa de respuesta permanece más elevada en los sujetos con destrucción de las vías ascendentes serotoninérgicas. Esta diferencia se hace

menos marcada conforme transcurren las sesiones de entrenamiento, sin embargo el ancho de los picos se mantiene mayor en los grupos de lesión (Al-Ruwaitea et al., 1997).

Uno de los grupos pioneros en retomar el estudio del efecto de la serotonina en la estimación temporal fue Bayley et al. (1998) ya que en ratas entrenadas en el procedimiento de pico se les administró diversos inhibidores de la recaptura de serotonina (imipramina 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg; zimelidina 10.0, 20.0 y 40.0 mg/kg; clomipramina 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg) y se encontró que la imipramina y la clomipramina no producen ningún efecto sobre los tiempos pico o el ancho de este. Sin embargo la zimelidina produce un incremento de los tiempos picos aunque modifica el ancho del pico lo que permite inferir una posible participación de este sistema en la estimación temporal. En otro estudio realizado por McDonald y Meck en el 2005 se evaluó la administración del antagonista 5-HT<sub>2A/2C</sub> clozapina en dosis de 0.6, 1.2 y 2.4 mg/kg y se encontró un decremento en los tiempos pico aunque no describen ninguna otra medida. Sin embargo, este fármaco también presenta actividad dopaminérgica por lo que los resultados no necesariamente pueden ser atribuidos a la estimulación de receptores serotoninérgicos. Por otra parte, Asgari et al. en el 2006 evaluaron fármacos con afinidad a los subtipos de receptores 5-HT<sub>1A/7</sub> y 5-HT<sub>2</sub>. En el caso específico de los fármacos 5-HT<sub>1A/7</sub> se administró el agonista 8-OH-DPAT en dosis de 0.05 mg/kg y el antagonista WAY-100635 en dosis de 0.1 mg/kg y se encontró que el 8-OH-DPAT decremento los tiempos pico sin modificar las fracciones de Weber, pero tras la administración del antagonista WAY-100635 no se observó efecto sobre los tiempos pico o la Fracción de Weber. Finalmente, la administración de los fármacos con afinidad por los subtipos de receptores 5-HT<sub>2</sub> muestran que tras la administración del agonista DOI en dosis de 0.25 mg/kg decrementó los tiempos pico sin alterar

la Fracción de Weber, pero tras la administración del antagonista ketanserina en dosis de 2.0 mg/kg se encontró que no producía ningún efecto sobre los tiempos pico y la Fracción de Weber (ver tabla 16).

Tabla 16: Efecto de fármacos serotoninérgicos sobre el procedimiento de pico

| Fármacos     | Afinidad                               | Actividad          | Dosis                       | Tarea | Resultado        | Sensibilidad      | Autor                  |
|--------------|--|--------------------|-----------------------------|-------|------------------|-------------------|------------------------|
| 8-OH-DPAT    | 5-HT <sub>1A/7</sub>                   | Agonista           | 0.05 mg/kg s.c.             | PP    | Decremento en TP | Sin efecto        | Asgari, et al., 2006   |
| DOI          | 5-HT <sub>2</sub>                      | Agonista           | 0.25 mg/kg s.c.             | PP    | Decremento en TP | Sin efecto        | Asgari, et al., 2006   |
| Clomipramina | Inhibidor de recaptura                 | Agonista indirecto | 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg i. p. | PP    | Sin efecto       | Sin efecto        | Bayley, et al., 1998   |
| Imipramina   | Inhibidor de recaptura                 | Agonista indirecto | 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg i.p.  | PP    | Sin efecto       | Sin efecto        | Bayley, et al., 1998   |
| Zimelidina   | Inhibidor de captura                   | Agonista indirecto | 10, 20 y 40 mg/kg i.p.      | PP    | Decrementa el TP | Incrementa spread | Bayley, et al., 1998   |
| WAY-100635   | 5-HT <sub>1A/7</sub>                   | Antagonista        | 0.1 mg/kg s.c.              | PP    | Sin efecto       | Sin efecto        | Asgari, et al., 2006   |
| Ketanserina  | 5-HT <sub>2</sub>                      | Antagonista        | 2.0 mg/kg s.c.              | PP    | Sin efecto       | Sin efecto        | Asgari, et al., 2006   |
| Clozapina    | 5-HT <sub>2A/2C</sub> , D <sub>2</sub> | Antagonista        | 0.6, 1.2 y 2.4 mg/kg i.p.   | PP    | Decremento en TP | No descrito       | McDonald & Meck, 2005  |
| 5,7-HT       | Neurotoxina 5-HT                       | Neurotoxina        | 4µg                         | PP    | Sin efecto       | Incrementa spread | Morrissey et al., 1994 |

Tabla 16: Se pueden observar los efectos de diversos fármacos serotoninérgicos sobre la ejecución de sujetos entrenados en la tarea de procedimiento de pico (PP). De izquierda derecha las columnas muestran: el nombre de los compuestos, su afinidad, actividad, las dosis empleadas, el procedimiento, una medida de tendencia central, una de sensibilidad y el autor. Los datos reportados en la tabla son tiempos pico (TP) y la Fracción de Weber (FW) o el spread.

Los resultados obtenidos en el presente estudio tras la administración de fármacos serotoninérgicos muestran que tras la administración del agonista 5-HT<sub>1A/7</sub> 8-OH-DPAT no se observa efecto en ninguna de las medidas reportadas. Este dato se contrapone a lo que reporta Asgari et al. en 2006; sin embargo, hay que notar que este grupo ocupa solamente una dosis además de una ruta de administración distinta (s.c.) a la que se utilizó en este estudio (i.p.); por lo que en el presente estudio no se puede confirmar la participación los receptores 5-HT<sub>1A</sub> o 5-HT<sub>7</sub> en los mecanismos de estimación temporal en el rango de segundos a minutos. Con lo que respecta a la estimulación del

subtipo de receptor 5-HT<sub>2</sub> el presente estudio revela nuevamente un hallazgo opuesto al encontrado por Asgari ya que ellos encontraron un decremento de los tiempos pico sin afectar ninguna otra medida mientras nosotros observamos un incremento de los tiempos pico y de la Fracción de Weber. Sin embargo esto puede deberse al hecho de que el m-CPP también presenta afinidad por los receptores 5-HT<sub>1B</sub> mientras que el DOI muestra preferencia por el subtipo 5-HT<sub>2A/B/C</sub>. Ahora bien, el hecho de que tras la administración del antagonista ketanserina, (el cual presenta mayor afinidad por los receptores 5-HT<sub>2C</sub>) se haya revertido el efecto observado por Asgari nos permite inferir que el efecto obtenido en el presente estudio puede deberse por la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, hipótesis que debe de comprobarse administrando agonistas y antagonistas con alta afinidad a este subtipo de receptores. Finalmente tras la administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> m-CPBG se observó que existe un decremento de la tasa pico, un incremento de la Fracción de Weber (que pudo ser causado por los efectos motores producidos por el fármaco), sin embargo no modifica los tiempos pico. Motivo por el cual no se asume que la estimulación de este subtipo de receptores tenga un efecto sobre los mecanismos temporales del organismo.

Tabla 17: Efecto de la administración de fármacos serotoninérgico sobre la estimación temporal.

|           |                              | Procedimiento de pico |             |       |                        | Bisección temporal |       |                             |
|-----------|------------------------------|-----------------------|-------------|-------|------------------------|--------------------|-------|-----------------------------|
| Fármaco   | Afinidad                     | Tasa pico             | Tiempo pico | Limén | Fracción de Weber Pico | Punto de Bisección | Limén | Fracción de Weber Bisección |
| 8 OH-DPAT | 5HT <sub>1A/7</sub> Agonista | =                     | =           | =     | =                      | =                  | =     | =                           |

|        |                                 |   |   |   |   |   |   |   |
|--------|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|
| m-CPP  | 5HT <sub>2B2C</sub><br>Agonista | ↓ | ↑ | = | = | ↑ | = | = |
| m-CPBG | 5HT <sub>3</sub><br>Agonista    | ↓ | = | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |

Tabla 16: Efecto de los diversos fármacos serotoninérgicos en la estimación temporal inmediata (procedimiento de pico) y retrospectiva (bisección temporal) sobre las Fracciones de Weber, limen, puntos de bisección, tasas pico y tiempos pico. Los resultados que arrojaron un incremento estadísticamente significativo con respecto a las condiciones control se simbolizan con una ↑ ( $p < 0.05$ ), los resultados que mostraron un decremento significativo con respecto a las condiciones control se simbolizan con una ↓ ( $p < 0.05$ ) mientras que en los resultados donde no hay efecto significativo se simboliza con = ( $p > 0.05$ ).

## **SISTEMA SEROTONÉRGICO**

### **ESTIMACIÓN TEMPORAL RETROSPECTIVA**

La principal evidencia de la participación de mecanismos serotoninérgicos en la estimación temporal retrospectiva viene de los estudios de destrucción de las vías serotoninérgicas. Morrisey et al. (1993) entrenaron ratas con lesión en las vías serotoninérgicas y ratas con lesiones falsas en una tarea de bisección temporal utilizando estímulos estándar de 2 y 8 sec. Sus resultados mostraron que los sujetos con lesiones no mostraban déficit en la sensibilidad al paso del tiempo debido a que las Fracciones de Weber no mostraban alteración alguna al compararlas con las obtenidas con los sujetos con lesiones falsas, sin embargo, las funciones psicométricas obtenidas se desplazaban hacia la izquierda, esto obviamente reflejado en una reducción de los puntos de bisección al compararlos con los obtenidos con los sujetos con lesiones falsas. Estos hallazgos al ser interpretados bajo la teoría SET, la cual asume que la posición de los puntos de bisección esta determinada por la tasa de actividad del marcapasos, sugieren que la destrucción de las vías ascendentes serotoninérgicas resultaba en una aceleración del supuesto reloj. Sin embargo también se ha propuesto que un cambio agudo en el marcapasos puede alterar los puntos de bisección y que este cambio puede ser compensado por un ajuste gradual en el acumulador lo que resultaría en un movimiento de los puntos de bisección a su punto de origen natural en la media geométrica de ambos intervalos (Meck, 1983; Killeen & Fetterman, 1988). Este problema tuvo un respuesta alternativa propuesta por Graham et al. (1994) ya que menciona que en ratas con lesión en las vías serotoninérgicas muestran una preferencia a responder al operando asociado con el estímulo corto al inicio del intervalo, conforme transcurre el intervalo los sujetos migran a responder al operando asociado con el intervalo largo. Sugiriendo entonces que la destrucción de las vías serotoninérgicas

facilita la migración del operando “corto” al operando “largo”. Graham et al. (1994) sustentan esta hipótesis mostrando los datos de sujetos entrenados en duraciones que imposibilitaban la migración de los sujetos durante los intervalos a estimar (200 vs 800 ms). En esta situación se observó que los puntos de bisección de los sujetos con lesión en las vías ascendentes serotoninérgicas eran similares a los sujetos con lesiones falsas. Evidencia posterior que confirmaba los hallazgos de reducción de los puntos de bisección reportados por Morrisey et al. en 1993 fue aportada por Ho et al. (1995). Este grupo entrenó dos grupos de sujetos con lesión en las vías serotoninérgicas en una tarea de bisección temporal utilizando la escala de segundos (2 vs 8 sec). El primer grupo mantenía las condiciones idénticas a los experimentos de Morrisey mientras que el grupo 2 tenía la condición de que al terminar la presentación de los estímulos a evaluar los sujetos tenían que tocar con la nariz (nose poke) un panel situado entre los operandos para así poder acceder al reforzador. Este aditamento se describió que permitía la reducción del paso de el operando A al operando B en los ensayos. Los resultados obtenidos mostraron que la introducción del “nose poke” reduce el efecto de decremento de los puntos de bisección indicando que la destrucción de las vías serotoninérgicas no tenía efecto sobre discriminación temporal en la tarea de bisección temporal.

Uno de los problemas más importantes de la evaluación de los mecanismos serotoninérgicos de la estimación temporal con el procedimiento de bisección temporal son los pocos estudios que se han realizado administrando drogas con afinidad a este sistema. Sin embargo, hay algunos estudios donde han administrado diversos fármacos serotoninérgicos. Uno de estos lo realizó Meck en 1986 administrando el antagonista 5-HT<sub>1A</sub> promazina en dosis de 0.25 mg/kg y el antagonista 5-HT<sub>2A</sub> y

D<sub>2</sub>LIKE espiroperidol en dosis de 0.025 mg/kg. Este estudio encontró que tras la administración de los antagonistas no se modificaban los puntos de bisección ni las Fracciones de Weber, por lo que en este estudio se descartaba la participación del sistema serotoninérgico. Posteriormente Ho et al. en 1995 realizan un experimento en donde a sujetos entrenados en bisección temporal se les administraba dos inhibidores de la recaptura: fluvoxamina y desipramina. La fluvoxamina en dosis de 8.0 mg/kg no produce efecto en los puntos de bisección ni en las Fracciones de Weber. Resultado similar obtuvieron tras la administración de desipramina ya que tampoco modificó los puntos de bisección ni las Fracciones de Weber (Ho et al., 1995) (tabla 17).

En el presente estudio se encontró que tras la administración del agonista serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT no se modificaron los puntos de bisección, resultado que es congruente al obtenido en el procedimiento de pico y permite descartar la participación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en los mecanismos de estimación temporal retrospectiva e inmediata evaluados con el procedimiento de pico y bisección temporal. La administración del agonista 5-HT<sub>1B/2C</sub> m-CPP incrementó los puntos de bisección sin alterar la Fracción de Weber, resultado que es congruente con el obtenido en el procedimiento de pico. En conjunto estos resultados nos muestran una posible participación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> en los mecanismos de estimación temporal. Finalmente la administración del agonista 5-HT<sub>3</sub> m-CPBG en los sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal produjo un incremento de los puntos de bisección, de la Fracción de Weber y un aplanamiento de las funciones psicométricas. Este permite inferir la participación de el subtipo de receptores 5-HT<sub>3</sub> en la mecanismos atentos relacionados con la estimación temporal debido al incremento de la fracción de Weber y el aplanamiento de las funciones psicométricas.

Tabla 17: Efecto de fármacos serotoninérgicos sobre el procedimiento de bisección temporal

| Fármacos      | Afinidad                                  | Actividad              | Dosis   | Tarea              | Resultado        | Sensibilidad | Autor                  |
|---------------|---|------------------------|---------|--------------------|------------------|--------------|------------------------|
| Espiroperidol | 5-HT <sub>2A</sub><br>D <sub>2</sub> LIKE | Antagonista            | 0.025 > | BT                 | Sin efecto       | Sin efecto   | Meck, 1986             |
| Promazina     | 5-HT <sub>1A</sub>                        | Antagonista            | 0.025 > | BT                 | Sin efecto       | Sin efecto   | Meck, 1986             |
| Desipramina   | Inespecífico                              | Inhibidor de recaptura | 8 mg/kg | BT                 | Sin efecto       | Sin efecto   | Ho et al., 1995        |
| Fluvoxamina   | Inespecífico                              | Inhibidor de recaptura | 8 mg/kg | BT                 | Sin efecto       | Sin efecto   | Ho et al., 1995        |
| 5,7-HT        | Neurotoxina 5-HT                          | Neurotoxina            | 4µg     | BT                 | Incremento de PB | Sin efecto   | Morrissey et al., 1993 |
| 5,7-HT        | Neurotoxina 5-HT                          | Neurotoxina            | 4µg     | BT                 | Sin efecto       | Sin efecto   | Gram. et al., 1994     |
| 5,7-HT        | Neurotoxina 5-HT                          | Neurotoxina            | 4µg     | BT<br>Nose<br>Poke | Sin efecto       | Sin efecto   | Ho et al., 1995        |

Tabla 17: Se pueden observar los efectos de diversos fármacos dopaminérgicos sobre la ejecución de sujetos entrenados en la tarea de bisección temporal (BT). De izquierda derecha las columnas muestran: el nombre de los compuestos, su afinidad, actividad, las dosis empleadas, el procedimiento, una medida de tendencia central, una de sensibilidad y el autor. Los datos reportados en la tabla son los puntos de bisección (PB) y la Fracción de Weber (FW).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten tener un panorama más amplio acerca de los mecanismos que subyacen a la estimación temporal retrospectiva e inmediata. En primer lugar nos permite rechazar de manera categórica que el sistema dopaminérgico sea el único sistema de neurotransmisión que este mediando los mecanismos de estimación temporal. Esto quiere decir que aunque pareciera que los mecanismos de estimación temporal se ven afectados si incrementamos o decrementamos la cantidad de dopamina disponible, los resultados obtenidos por el presente trabajo no apoyan este supuesto ya que como se observó en el presente estudio el sistema serotoninérgico también participa en la estimación temporal. Un punto importante de destacar es que los bajos niveles de dopamina si afectan los mecanismos de estimación temporal ya que al bloquear receptores dopaminérgicos con antagonistas el efecto observado es un decremento de los tiempos pico y puntos de bisección. Además un efecto que apoya esta hipótesis es que la estimulación de receptores presinápticos (lo que resulta molecularmente en una menor

cantidad de dopamina) produce el mismo efecto que el de los antagonistas. Lo que nos permite inferir que, solo si hay bajos niveles de dopamina podríamos hablar de un efecto sobre la estimación temporal. Por otra parte si aplicamos agonistas dopaminérgicos las respuestas varían de manera significativa (incremento de las mediciones, decremento o ausencia de efecto). Además de estas suposiciones debemos incluir el hecho de que al menos uno de los subtipos de receptores de la serotonina participan en los mecanismos de estimación temporal (5-HT<sub>1B</sub>) y otros permanecen aún sin evaluar adecuadamente (5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5,6,7</sub>). Otros estudios han arrojado que los ganglios basales, la corteza cerebral y el cerebelo participan de forma importante en la estimación temporal (Harrington et al., 2004; Matell et al., 2000) incluso recientemente se ha propuesto al eje tálamo-cortico-estriado como el orquestador de las funciones temporales (Buhusi & Meck, 2005).

Una de las explicaciones acerca de los mecanismos de estimación temporal radica en el funcionamiento de las estructuras relacionadas con la toma de decisión y planeación, particularmente la corteza prefrontal y orbitofrontal. Sin embargo se ha descrito que esta zona esta inervada por varios sistemas de neurotransmisión tales como la 5-HT, la NE y la DA por lo que apoya la idea de que los mecanismos atencionales y de decisión no dependen solamente de un solo sistema de neurotransmisión.

Cuando se lesionan las vías ascendentes serotoninérgicas se ha encontrado un déficit en tareas de discriminación visual así como bajos niveles de serotonina en la corteza prefrontal y orbitofrontal (Winstanley et al., 2006). Esto además incide en la cantidad de DA en estas mismas regiones ya

que se ha mostrado que la administración de fármacos serotoninérgicos afecta la cantidad de dopamina en el corteza prefrontal. En particular se ha mostrado que los fármacos que presentan afinidad por los subtipos de receptores 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>1D</sub> son los que presentan una mayor participación en esta función (Bortolozzi et al., 2005; Robbins, 2005). Estos datos apoyan los hallazgos encontrados tras la administración de los fármacos serotoninérgicos al encontrar una probable modulación del sistema dopaminérgico por el sistema serotoninérgico, particularmente por la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>1B</sub>. Otra serie de experimentos mostró que sujetos entrenados en una tarea de descuento demorado incrementaban la cantidad de 5-HT en la corteza prefrontal, mientras que en la corteza orbitofrontal no había cambios (Winstanley et al., 2006). En este mismo experimento también se encontró que la cantidad de dopamina incrementaba tanto en la corteza orbitofrontal como en la corteza prefrontal. Se propuso que el incremento de la serotonina en la corteza prefrontal estaba fuertemente relacionado con la toma de decisiones más que con las contingencias en el reforzamiento. Por otra parte, el incremento de dopamina en la corteza orbitofrontal permitió inferir que la dopamina podría estar participando en la mediación de los juicios entre la demora y el descuento mientras que la dopamina en la corteza prefrontal podría estar participando en la percepción de la “ganancia” o la recompensa. Estos resultados apoyan ampliamente la hipótesis de que la serotonina y la dopamina participan conjuntamente en la regulación de la impulsividad, la toma de decisiones y la estimación temporal.

El incremento de los niveles de 5-HT en los programas de descuento y demora del reforzador reflejan un procesamiento temporal regulado por este sistema. Esta inferencia es reforzada por los hallazgos de Ho et al., (2002) y Dietrich et al. (1998). Sin embargo la disociación entre el sistema

DA y 5-HT no ha sido contundente hasta ahora. En un experimento se utilizó la neurotoxina 5,7-DHT administrada intracranealmente en la corteza prefrontal en monos entrenados en una tarea de igualdad a la muestra y se encontró que la deficiencia de serotonina inducía una deficiencia en el cambio atencional entre e intra estímulos lo que impedía que los sujetos seleccionaran el estímulo asociado con la recompensa (Clarke et al., 2004), mientras que el decremento de la DA inducido por la administración de la neurotoxina 6-OH-DA produjo el efecto contrario (Crofts et al., 2001).

Los hallazgos del presente trabajo se oponen categóricamente a una teoría de neurotransmisor único en los procesos de estimación temporal. Apoya los datos que proponen la hipótesis de diferentes sistemas que convergen en la corteza prefrontal y orbitofrontal que en conjunto permiten hacer evaluaciones precisas de los estímulos ambientales y conducirse adecuadamente. Propone la existencia de mecanismos diferenciales en cuanto al tipo de estimación temporal. Nos permite inferir la existencia de más de un mecanismo regulador de tiempo, incluso podemos proponer la existencia de osciladores que, dependiendo del tipo de tarea, de contexto, etc., se activan de manera diferencial. Finalmente nos permite concluir que los hallazgos que fundamentaron la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal carecen de sustento farmacológico experimental por lo que la propuesta de los mecanismos dopaminérgicos de la estimación de tiempo debe de ser reformulada a la luz de los hallazgos actuales. Parece ser que en el afán de encontrar un análogo del núcleo supraquiasmático en la estimación temporal en el rango de segundos a minutos se ha olvidado la importancia evolutiva de la conducta de estimación temporal.

El presente estudio fue elaborado gracias al apoyo de los proyectos PAPPIT IN208201, IN200805, CONACyT 37066H.

## Referencias

- Abramowski, D., Rigo, M., Duc, D., Hoyer, D., & Staufenbiel, M. (1995). Localization of the 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptor protein in human and rat brain using specific antisera. *Neuropharmacology*, *34*, 1635-1645.
- Adinoff, B. (2004). Neurobiologic processes in drug reward and addiction. *Harv.Rev.Psychiatry*, *12*, 305-320.
- Adlersberg, M., Arango, V., Hsiung, S., Mann, J. J., Underwood, M. D., Liu, K. et al. (2000). In vitro autoradiography of serotonin 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor-activated G protein: guanosine-5'-(gamma-[(35)S]thio)triphosphate binding in rat brain. *J.Neurosci.Res.*, *61*, 674-685.
- Ahlenius, S., Larsson, K., & Arvidsson, L. E. (1989). Effects of stereoselective 5-HT<sub>1A</sub> agonists on male rat sexual behavior. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *33*, 691-695.
- Ahlgren, C., Eriksson, A., Tellefors, P., Ross, S. B., Stenfors, C., & Malmberg, A. (2004). In vitro characterization of AR-A000002, a novel 5-hydroxytryptamine(1B) autoreceptor antagonist. *Eur.J.Pharmacol.*, *499*, 67-75.
- Aiba, A. (1999). [Dopamine receptor knockout mice]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, *19*, 251-255.
- Aja, S. M., Barrett, J. A., & Gietzen, D. W. (1999). CCK(A) and 5-HT<sub>3</sub> receptors interact in anorectic responses to amino acid deficiency. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *62*, 487-491.

Al-Zahrani, S. S., Ho, M. Y., Martinez, D. N., Cabrera, M. L., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (1996). Effect of destruction of the 5-hydroxytryptaminergic pathways on the acquisition of temporal discrimination and memory for duration in a delayed conditional discrimination task. *Psychopharmacology (Berl)*, *123*, 103-110.

Altman, J. L., Appel, J. B., & McGowan, W. T., III (1979). Drugs and the discrimination of duration. *Psychopharmacology (Berl)*, *60*, 183-188.

Andrews, N., Hogg, S., Gonzalez, L. E., & File, S. E. (1994). 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the median raphe nucleus and dorsal hippocampus may mediate anxiolytic and anxiogenic behaviours respectively. *Eur.J.Pharmacol.*, *264*, 259-264.

Ariano, M. A., Wang, J., Noblett, K. L., Larson, E. R., & Sibley, D. R. (1997). Cellular distribution of the rat D<sub>4</sub> dopamine receptor protein in the CNS using anti-receptor antisera. *Brain Res.*, *752*, 26-34.

Artalejo, C. R., Ariano, M. A., Perlman, R. L., & Fox, A. P. (1990). Activation of facilitation calcium channels in chromaffin cells by D<sub>1</sub> dopamine receptors through a cAMP/protein kinase A-dependent mechanism. *Nature*, *348*, 239-242.

Asgari, K., Body, S., Bak, V. K., Zhang, Z. Q., Rickard, J. F., Glennon, J. C. et al. (2006). Effects of 5-HT<sub>2A</sub> receptor stimulation on the discrimination of durations by rats. *Behav.Pharmacol.*, *17*, 51-59.

Astier, B., Lambas, S. L., Souliere, F., Schmitt, P., Urbain, N., Rentero, N. et al. (2003). In vivo comparison of two 5-HT<sub>1A</sub> receptors agonists alnespirone (S-20499) and buspirone on locus coeruleus neuronal activity. *Eur.J.Pharmacol.*, 459, 17-26.

Avgustinovich, D. F. & Nikulina, E. M. (1992). [The distribution of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in the brain of rodents and carnivores]. *Zh.Evol.Biokhim.Fiziol.*, 28, 3-8.

Ball, K. T. & Rebec, G. V. (2005). Role of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C/B</sub> receptors in the acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on striatal single-unit activity and locomotion in freely moving rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 181, 676-687.

Barnes, N. M. & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38, 1083-1152.

Baxter, G., Kennett, G., Blaney, F., & Blackburn, T. (1995). 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes: a family re-united? *Trends Pharmacol.Sci.*, 16, 105-110.

Bayley, P. J., Bentley, G. D., & Dawson, G. R. (1998). The effects of selected antidepressant drugs on timing behaviour in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 136, 114-122.

Belke, T. W., Oldford, A. C., Forgie, M. Y., & Beye, J. A. (2005). Responding for sucrose and wheel-running reinforcement: effect of D-amphetamine. *Behav.Pharmacol.*, 16, 219-225.

Berg, K. A., Clarke, W. P., Sailstad, C., Saltzman, A., & Maayani, S. (1994). Signal transduction differences between 5-hydroxytryptamine type 2A and type 2C receptor systems. *Mol.Pharmacol.*, *46*, 477-484.

Bhatnagar, S., Nowak, N., Babich, L., & Bok, L. (2004). Deletion of the 5-HT3 receptor differentially affects behavior of males and females in the Porsolt forced swim and defensive withdrawal tests. *Behav.Brain Res.*, *153*, 527-535.

bi-Saab, W. M., Bubser, M., Roth, R. H., & Deutch, A. Y. (1999). 5-HT2 receptor regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, *20*, 92-96.

Bickerdike, M. J. (2003). 5-HT2C receptor agonists as potential drugs for the treatment of obesity. *Curr.Top.Med.Chem.*, *3*, 885-897.

Biederman, J. & Faraone, S. V. (2005). Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet*, *366*, 237-248.

Bizot, J. C., Thiebot, M. H., Le, B. C., Soubrie, P., & Simon, P. (1988). Effects of imipramine-like drugs and serotonin uptake blockers on delay of reward in rats. Possible implication in the behavioral mechanism of action of antidepressants. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, *246*, 1144-1151.

Bizot, J. C. & Thiebot, M. H. (1996). Impulsivity as a confounding factor in certain animal tests of cognitive function. *Brain Res.Cogn Brain Res.*, *3*, 243-250.

Body, S., Kheramin, S., Ho, M. Y., Miranda, F., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (2003). Effects of a 5-HT<sub>2</sub> receptor agonist, DOI (2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine), and antagonist, ketanserin, on the performance of rats on a free-operant timing schedule. *Behav.Pharmacol.*, *14*, 599-607.

Body, S., Asgari, K., Rickard, J. F., Zhang, Z., Fone, K. C., Bradshaw, C. M. et al. (2005). Effects of quipazine and m-chlorophenylbiguanide (m-CPBG) on temporal differentiation: evidence for the involvement of 5-HT<sub>2A</sub> but not 5-HT<sub>3</sub> receptors in interval timing behaviour. *Psychopharmacology (Berl)*, *181*, 289-298.

Boess, F. G. & Martin, I. L. (1994). Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology*, *33*, 275-317.

Boess, F. G., Beroukhim, R., & Martin, I. L. (1995). Ultrastructure of the 5-hydroxytryptamine<sub>3</sub> receptor. *J.Neurochem.*, *64*, 1401-1405.

Bonaventure, P., Umans, L., Bakker, M. H., Cras, P., Langlois, X., Luyten, W. H. et al. (1999). Humanization of mouse 5-hydroxytryptamine<sub>1B</sub> receptor gene by homologous recombination: in vitro and in vivo characterization. *Mol.Pharmacol.*, *56*, 54-67.

Bortolozzi, A., az-Mataix, L., Scorza, M. C., Celada, P., & Artigas, F. (2005). The activation of 5-HT receptors in prefrontal cortex enhances dopaminergic activity. *J.Neurochem.*, *95*, 1597-1607.

Boulay, D., Depoortere, R., Perrault, G., Borrelli, E., & Sanger, D. J. (1999). Dopamine D<sub>2</sub> receptor knock-out mice are insensitive to the

hypolocomotor and hypothermic effects of dopamine D2/D3 receptor agonists. *Neuropharmacology*, 38, 1389-1396.

Boulay, D., Depoortere, R., Rostene, W., Perrault, G., & Sanger, D. J. (1999). Dopamine D3 receptor agonists produce similar decreases in body temperature and locomotor activity in D3 knock-out and wild-type mice. *Neuropharmacology*, 38, 555-565.

Boulenguez, P., Peters, S. L., Mitchell, S. N., Chauveau, J., Gray, J. A., & Joseph, M. H. (1998). Dopamine release in the nucleus accumbens and latent inhibition in the rat following microinjections of a 5-HT1B agonist into the dorsal subiculum: implications for schizophrenia. *J.Psychopharmacol.*, 12, 258-267.

Bradley, P. B., Humphrey, P. P., & Williams, R. H. (1986). Evidence for the existence of 5-hydroxytryptamine receptors, which are not of the 5-HT2 type, mediating contraction of rabbit isolated basilar artery. *Br.J.Pharmacol.*, 87, 3-4.

Breukelaar, J. W. C. & Dalrymple-Alford, J. C. (1999). Effects of lesions to the cerebellar vermis and hemispheres on timing and counting in rats. *Behavioral Neuroscience*, 113, US, <http://www>.

Brotto, L. A., Gorzalka, B. B., & Hanson, L. A. (1998). Effects of housing conditions and 5-HT2A activation on male rat sexual behavior. *Physiol Behav.*, 63, 475-479.

Buhusi, C. V. & Meck, W. H. (2002). Differential effects of methamphetamine and haloperidol on the control of an internal clock. *Behav. Neurosci.*, 116, 291-297.

Burns, C. M., Chu, H., Rueter, S. M., Hutchinson, L. K., Canton, H., Sanders-Bush, E. et al. (1997). Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature*, 387, 303-308.

Carli, M., Luschi, R., & Samanin, R. (1997). Dose-related impairment of spatial learning by intrahippocampal scopolamine: antagonism by ondansetron, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist. *Behav. Brain Res.*, 82, 185-194.

Casanovas, J. M., Hervas, I., & Artigas, F. (1999). Postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors control 5-HT release in the rat medial prefrontal cortex. *Neuroreport*, 10, 1441-1445.

Castro, L., Athanazio, R., Barbetta, M., Ramos, A. C., Angelo, A. L., Campos, I. et al. (2003). Central 5-HT<sub>2B/2C</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. *Brain Res.*, 981, 151-159.

Centonze, D., Grande, C., Saulle, E., Martin, A. B., Gubellini, P., Pavon, N. et al. (2003). Distinct roles of D1 and D5 dopamine receptors in motor activity and striatal synaptic plasticity. *J. Neurosci.*, 23, 8506-8512.

Cevik, M. O. (2003). Effects of methamphetamine on duration discrimination. *Behav. Neurosci.*, 117, 774-784.

Chiang, T. J., Al-Ruwaitea, A. S., Mobini, S., Ho, M. Y., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (2000). Effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) on performance on two operant timing schedules. *Psychopharmacology (Berl)*, *151*, 379-391.

Chiang, T. J., Al-Ruwaitea, A. S., Mobini, S., Ho, M. Y., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (2000). The effect of d-amphetamine on performance on two operant timing schedules. *Psychopharmacology (Berl)*, *150*, 170-184.

Chojnacka-Wojcik, E. & Klodzinska, A. (1997). Involvement of 5-hydroxytryptamine 2A (5-HT<sub>2A</sub>) receptors in the mediation of the discriminative stimulus properties of (+/-)DOI in rats. *Pol.J.Pharmacol.*, *49*, 299-304.

Chou-Green, J. M., Holscher, T. D., Dallman, M. F., & Akana, S. F. (2003). Compulsive behavior in the 5-HT<sub>2C</sub> receptor knockout mouse. *Physiol Behav.*, *78*, 641-649.

Chung, Y. C., Li, Z., Dai, J., Meltzer, H. Y., & Ichikawa, J. (2004). Clozapine increases both acetylcholine and dopamine release in rat ventral hippocampus: role of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonism. *Brain Res.*, *1023*, 54-63.

Church, R. M. & Gibbon, J. (1982). Temporal generalization. *J.Exp.Psychol.Anim Behav.Process*, *8*, 165-186.

Church, R. M. (1984). Properties of the internal clock. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, *423*, 566-582.

Clark, M. S. & Neumaier, J. F. (2001). The 5-HT<sub>1B</sub> receptor: behavioral implications. *Psychopharmacol.Bull.*, 35, 170-185.

Clarke, R. W., Harris, J., & Houghton, A. K. (1996). Spinal 5-HT-receptors and tonic modulation of transmission through a withdrawal reflex pathway in the decerebrated rabbit. *Br.J.Pharmacol.*, 119, 1167-1176.

Clemett, D. A., Punhani, T., Duxon, M. S., Blackburn, T. P., & Fone, K. C. (2000). Immunohistochemical localisation of the 5-HT<sub>2C</sub> receptor protein in the rat CNS. *Neuropharmacology*, 39, 123-132.

Clifford, J. J., Kinsella, A., Tighe, O., Rubinstein, M., Grandy, D. K., Low, M. J. et al. (2001). Comparative, topographically-based evaluation of behavioural phenotype and specification of D(1)-like:D(2) interactions in a line of incipient congenic mice with D(2) dopamine receptor 'knockout'. *Neuropsychopharmacology*, 25, 527-536.

Consolo, S., Bertorelli, R., Russi, G., Zambelli, M., & Ladinsky, H. (1994). Serotonergic facilitation of acetylcholine release in vivo from rat dorsal hippocampus via serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptors. *J.Neurochem.*, 62, 2254-2261.

Cortes, R., Camps, M., Gueye, B., Probst, A., & Palacios, J. M. (1989). Dopamine receptors in human brain: autoradiographic distribution of D1 and D2 sites in Parkinson syndrome of different etiology. *Brain Res.*, 483, 30-38.

Cory-Slechta, D. A., Zuch, C. L., & Fox, R. A. (1996). Comparison of the stimulus properties of a pre- vs. a putative postsynaptic dose of quinpirole. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 55, 423-432.

Costentin, J. (1995). [Parkinson disease and the neuronal dopamine uptake complex]. *Ann.Pharm.Fr.*, 53, 145-154.

Crofts, H. S., Dalley, J. W., Collins, P., Van Denderen, J. C., Everitt, B. J., Robbins, T. W. et al. (2001). Differential effects of 6-OHDA lesions of the frontal cortex and caudate nucleus on the ability to acquire an attentional set. *Cereb.Cortex*, 11, 1015-1026.

Crystal, J. D., Maxwell, K. W., & Hohmann, A. G. (2003). Cannabinoid modulation of sensitivity to time. *Behav.Brain Res.*, 144, 57-66.

Curran, S., Purcell, S., Craig, I., Asherson, P., & Sham, P. (2005). The serotonin transporter gene as a QTL for ADHD. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, 134, 42-47.

Davidson, C. & Stamford, J. A. (1995). Evidence that 5-hydroxytryptamine release in rat dorsal raphe nucleus is controlled by 5-HT1A, 5-HT1B and 5-HT1D autoreceptors. *Br.J.Pharmacol.*, 114, 1107-1109.

Davies, P. A., Pistis, M., Hanna, M. C., Peters, J. A., Lambert, J. J., Hales, T. G. et al. (1999). The 5-HT3B subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature*, 397, 359-363.

de Almeida, R. M., Giovenardi, M., da Silva, S. P., de, O., V, & Stein, D. J. (2005). Maternal aggression in Wistar rats: effect of 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor agonist and antagonist microinjected into the dorsal periaqueductal gray matter and medial septum. *Braz.J.Med.Biol.Res.*, 38, 597-602.

De La, G. R., Callahan, P. M., & Cunningham, K. A. (1996). Detailed investigations of 5-HT<sub>3</sub> compounds in a drug discrimination model. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 54, 533-540.

Defagot, M. C. & Antonelli, M. C. (1997). Autoradiographic localization of the putative D<sub>4</sub> dopamine receptor in rat brain. *Neurochem.Res.*, 22, 401-407.

Delgado, M., Caicoya, A. G., Greciano, V., Benhamu, B., Lopez-Rodriguez, M. L., Fernandez-Alfonso, M. S. et al. (2005). Anxiolytic-like effect of a serotonergic ligand with high affinity for 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Eur.J.Pharmacol.*, 511, 9-19.

Dews, P. B. (1977). Rate-dependency hypothesis. *Science*, 198, 1182-1183.

Dickenson, J. M. & Hill, S. J. (1995). Coupling of an endogenous 5-HT<sub>1B</sub>-like receptor to increases in intracellular calcium through a pertussis toxin-sensitive mechanism in CHO-K1 cells. *Br.J.Pharmacol.*, 116, 2889-2896.

Dourish, C. T., Hutson, P. H., Kennett, G. A., & Curzon, G. (1986). 8-OH-DPAT-induced hyperphagia: its neural basis and possible therapeutic relevance. *Appetite*, 7 Suppl, 127-140.

Dracheva, S. & Haroutunian, V. (2001). Locomotor behavior of dopamine D1 receptor transgenic/D2 receptor deficient hybrid mice. *Brain Res.*, *905*, 142-151.

Drew, M. R., Fairhurst, S., Malapani, C., Horvitz, J. C., & Balsam, P. D. (2003). Effects of dopamine antagonists on the timing of two intervals. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *75*, 9-15.

Duxon, M. S., Kennett, G. A., Lightowler, S., Blackburn, T. P., & Fone, K. C. (1997). Activation of 5-HT<sub>2B</sub> receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat. *Neuropharmacology*, *36*, 601-608.

Dyr, W. & Kostowski, W. (1995). Evidence that the amygdala is involved in the inhibitory effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists on alcohol drinking in rats. *Alcohol*, *12*, 387-391.

Eckerman, D. A., Segbefia, D., Manning, S., & Breese, G. S. (1987). Effects of methylphenidate and d-amphetamine on timing in the rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *27*, 513-515.

Fletcher, P. J. (1994). Effects of 8-OH-DPAT, 5-CT and muscimol on behaviour maintained by a DRL20 schedule of reinforcement, following microinjection into the dorsal or median raphe nuclei. *Behav.Pharmacol.*, *5*, 326-336.

Flores, P. & Pellon, R. (1995). Rate-dependency hypothesis and the rate-decreasing effects of d-amphetamine on schedule-induced drinking.

*Behav.Pharmacol.*, 6, 16-23.

Fone, K. C., Austin, R. H., Topham, I. A., Kennett, G. A., & Punhani, T. (1998). Effect of chronic m-CPP on locomotion, hypophagia, plasma corticosterone and 5-HT<sub>2C</sub> receptor levels in the rat. *Br.J.Pharmacol.*, 123, 1707-1715.

Fox, C. A., Mansour, A., Thompson, R. C., Bunzow, J. R., Civelli, O., & Watson, S. J., Jr. (1993). The distribution of dopamine D<sub>2</sub> receptor heteronuclear RNA (hnRNA) in the rat brain. *J.Chem.Neuroanat.*, 6, 363-373.

Frank, R. A., Tsibulsky, V., Grocki, S., Dashevsky, B., Kehne, J. H., Schmidt, C. J. et al. (1995). Mixed D<sub>2</sub>/5-HT<sub>2A</sub> antagonism of amphetamine-induced facilitation of brain stimulation reward. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 52, 799-804.

Frederick, D. L. & Allen, J. D. (1996). Effects of selective dopamine D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-agonists and antagonists on timing performance in rats.

*Pharmacol.Biochem.Behav.*, 53, 759-764.

Fujii, T., Nakai, K., Nakajima, Y., & Kawashima, K. (2000). Enhancement of hippocampal cholinergic neurotransmission through 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated pathways by repeated lithium treatment in rats. *Can.J.Physiol Pharmacol.*, 78, 392-399.

Gaddum, J. H. & Picarelli, Z. P. (1997). Two kinds of tryptamine receptor. 1957. *Br.J.Pharmacol.*, 120, 134-139.

Gatch, M. B. (2003). Discriminative stimulus effects of m-chlorophenylpiperazine as a model of the role of serotonin receptors in anxiety. *Life Sci.*, 73, 1347-1367.

Gibbon, J., Church, R. M., & Meck, W. H. (1984). Scalar timing in memory. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 423, 52-77.

Giovannini, M. G., Ceccarelli, I., Molinari, B., Cecchi, M., Goldfarb, J., & Blandina, P. (1998). Serotonergic modulation of acetylcholine release from cortex of freely moving rats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 285, 1219-1225.

Giros, B., Martres, M. P., Pilon, C., Sokoloff, P., & Schwartz, J. C. (1991). Shorter variants of the D3 dopamine receptor produced through various patterns of alternative splicing. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 176, 1584-1592.

Gomez, J., Zhang, L., Kostenis, E., Felder, C., Bymaster, F., Brodtkin, J. et al. (1999). Enhancement of D1 dopamine receptor-mediated locomotor stimulation in M(4) muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 96, 10483-10488.

Gozlan, H., el, M. S., Pichat, L., Glowinski, J., & Hamon, M. (1983). Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand: 3H-PAT. *Nature*, 305, 140-142.

Griffon, N., Pilon, C., Sautel, F., Schwartz, J. C., & Sokoloff, P. (1997). Two intracellular signaling pathways for the dopamine D3 receptor: opposite and synergistic interactions with cyclic AMP. *J.Neurochem.*, *68*, 1-9.

Guiramand, J., Montmayeur, J. P., Ceraline, J., Bhatia, M., & Borrelli, E. (1995). Alternative splicing of the dopamine D2 receptor directs specificity of coupling to G-proteins. *J.Biol.Chem.*, *270*, 7354-7358.

Haddjeri, N., de, M. C., & Blier, P. (1997). Modulation of the firing activity of noradrenergic neurones in the rat locus coeruleus by the 5-hydroxytryptamine system. *Br.J.Pharmacol.*, *120*, 865-875.

Hajos-Korcsok, E., McQuade, R., & Sharp, T. (1999). Influence of 5-HT<sub>1A</sub> receptors on central noradrenergic activity: microdialysis studies using (+/-)-MDL 73005EF and its enantiomers. *Neuropharmacology*, *38*, 299-306.

Hall, H., Sedvall, G., Magnusson, O., Kopp, J., Halldin, C., & Farde, L. (1994). Distribution of D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine receptors, and dopamine and its metabolites in the human brain. *Neuropsychopharmacology*, *11*, 245-256.

Hall, H., Farde, L., Halldin, C., Lundkvist, C., & Sedvall, G. (2000). Autoradiographic localization of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the human brain using [(3)H]M100907 and [(11)C]M100907. *Synapse*, *38*, 421-431.

Hamada, S., Senzaki, K., Hamaguchi-Hamada, K., Tabuchi, K., Yamamoto, H., Yamamoto, T. et al. (1998). Localization of 5-HT<sub>2A</sub> receptor in rat cerebral cortex and olfactory system revealed by immunohistochemistry using

two antibodies raised in rabbit and chicken. *Brain Res.Mol.Brain Res.*, 54, 199-211.

Harper, D. N., Bizo, L. A., & Peters, H. (2006). Dopamine agonists and antagonists can produce an attenuation of response bias in a temporal discrimination task depending on discriminability of target duration. *Behav.Processes*, 71, 286-296.

Harrington, D. L. & Haaland, K. Y. (1998). Sequencing and timing operations of the basal ganglia. In (.

Hartig, P. R., Hoyer, D., Humphrey, P. P., & Martin, G. R. (1996). Alignment of receptor nomenclature with the human genome: classification of 5-HT1B and 5-HT1D receptor subtypes. *Trends Pharmacol.Sci.*, 17, 103-105.

Harvey, J. A., Quinn, J. L., Liu, R., Aloyo, V. J., & Romano, A. G. (2004). Selective remodeling of rabbit frontal cortex: relationship between 5-HT2A receptor density and associative learning. *Psychopharmacology (Berl)*, 172, 435-442.

Hayes, M. R., Moore, R. L., Shah, S. M., & Covasa, M. (2004). 5-HT3 receptors participate in CCK-induced suppression of food intake by delaying gastric emptying. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol*, 287, R817-R823.

Hedlund, P. B., Kelly, L., Mazur, C., Lovenberg, T., Sutcliffe, J. G., & Bonaventure, P. (2004). 8-OH-DPAT acts on both 5-HT1A and 5-HT7 receptors to induce hypothermia in rodents. *Eur.J.Pharmacol.*, 487, 125-132.

Hedo, G. & Lopez-Garcia, J. A. (2002). 5-HT(1B) but not 5-HT(6) or 5-HT(7) receptors mediate depression of spinal nociceptive reflexes in vitro. *Br.J.Pharmacol.*, 135, 935-942.

Herbeth, B., Aubry, E., Fumeron, F., Aubert, R., Cailotto, F., Siest, G. et al. (2005). Polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene and food intakes in children and adolescents: the Stanislas Family Study. *Am.J.Clin.Nutr.*, 82, 467-470.

Hesen, W. & Joels, M. (1996). Modulation of 5HT<sub>1A</sub> responsiveness in CA1 pyramidal neurons by in vivo activation of corticosteroid receptors. *J.Neuroendocrinol.*, 8, 433-438.

Hearing, R. E. & Peroutka, S. J. (1987). Characterization of a novel 3H-5-hydroxytryptamine binding site subtype in bovine brain membranes. *J.Neurosci.*, 7, 894-903.

Hirst, W. D., Price, G. W., Rattray, M., & Wilkin, G. P. (1997). Identification of 5-hydroxytryptamine receptors positively coupled to adenylyl cyclase in rat cultured astrocytes. *Br.J.Pharmacol.*, 120, 509-515.

Hjorth, S. & Sharp, T. (1990). Mixed agonist/antagonist properties of NAN-190 at 5-HT<sub>1A</sub> receptors: behavioural and in vivo brain microdialysis studies. *Life Sci.*, 46, 955-963.

Ho, M. Y., Al-Zahrani, S. S., Velazquez Martinez, D. N., Lopez, C. M., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (1995). The role of the ascending 5-

hydroxytryptaminergic pathways in timing behaviour: further observations with the interval bisection task. *Psychopharmacology (Berl)*, 120, 213-219.

Hoffman, D. C. & Beninger, R. J. (1985). The D1 dopamine receptor antagonist, SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 22, 341-342.

Holtje, H. D. & Jendretzki, U. K. (1995). Construction of a detailed serotonergic 5-HT<sub>2a</sub> receptor model. *Arch.Pharm.(Weinheim)*, 328, 577-584.

Hong, E. & Meneses, A. (1996). Systemic injection of p-chloroamphetamine eliminates the effect of the 5-HT<sub>3</sub> compounds on learning. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 53, 765-769.

Horton, Y. M., Lubbert, H., & Houslay, M. D. (1996). Localization of the gene for the human serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptor to chromosome 2. *Mol.Membr.Biol.*, 13, 29-31.

Hoyer, D., Pazos, A., Probst, A., & Palacios, J. M. (1986). Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT<sub>1A</sub> recognition sites. Apparent absence of 5-HT<sub>1B</sub> recognition sites. *Brain Res.*, 376, 85-96.

Hoyer, D., Schoeffter, P., Waeber, C., & Palacios, J. M. (1990). Serotonin 5-HT<sub>1D</sub> receptors. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 600, 168-181.

Hoyer, D. & Boddeke, H. W. (1993). Partial agonists, full agonists, antagonists: dilemmas of definition. *Trends Pharmacol.Sci.*, 14, 270-275.

Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J. R., Hartig, P. R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J. et al. (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol.Rev.*, 46, 157-203.

Hoyer, D. & Martin, G. (1997). 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology*, 36, 419-428.

Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 71, 533-554.

Humphrey, P. P., Hartig, P., & Hoyer, D. (1993). A proposed new nomenclature for 5-HT receptors. *Trends Pharmacol.Sci.*, 14, 233-236.

Hutson, P. H., Dourish, C. T., & Curzon, G. (1988). Evidence that the hyperphagic response to 8-OH-DPAT is mediated by 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Eur.J.Pharmacol.*, 150, 361-366.

Isomoto, S., Kondo, C., & Kurachi, Y. (1997). Inwardly rectifying potassium channels: their molecular heterogeneity and function. *Jpn.J.Physiol*, 47, 11-39.

Kaiyala, K. J., Vincow, E. S., Sexton, T. J., & Neumaier, J. F. (2003). 5-HT<sub>1B</sub> receptor mRNA levels in dorsal raphe nucleus: inverse association with anxiety behavior in the elevated plus maze. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *75*, 769-776.

Kantor, S., Jakus, R., Balogh, B., Benko, A., & Bagdy, G. (2004). Increased wakefulness, motor activity and decreased theta activity after blockade of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor by the subtype-selective antagonist SB-215505. *Br.J.Pharmacol.*, *142*, 1332-1342.

Katsu, H. (2001). Selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, 8-OH-DPAT, locally administered into the dorsal raphe nucleus increased extracellular acetylcholine concentrations in the medial prefrontal cortex of conscious rats. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, *21*, 121-123.

Kennett, G. A., Ainsworth, K., Trail, B., & Blackburn, T. P. (1997). BW 723C86, a 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonist, causes hyperphagia and reduced grooming in rats. *Neuropharmacology*, *36*, 233-239.

Khawaja, X., Evans, N., Reilly, Y., Ennis, C., & Minchin, M. C. (1995). Characterisation of the binding of [<sup>3</sup>H]WAY-100635, a novel 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor antagonist, to rat brain. *J.Neurochem.*, *64*, 2716-2726.

Khroyan, T. V., Fuchs, R. A., Baker, D. A., & Neisewander, J. L. (1997). Effects of D3-preferring agonists 7-OH-PIPAT and PD-128,907 on motor behaviors and place conditioning. *Behav.Pharmacol.*, 8, 65-74.

Killeen, P. R. & Weiss, N. A. (1987). Optimal timing and the Weber function. *Psychol.Rev.*, 94, 455-468.

Killeen, P. R. & Fetterman, J. G. (1988). A behavioral theory of timing. *Psychol.Rev.*, 95, 274-295.

King, G. R., Xue, Z., Calvi, C., & Ellinwood, E. H., Jr. (1995). 5-HT<sub>3</sub> agonist-induced dopamine overflow during withdrawal from continuous or intermittent cocaine administration. *Psychopharmacology (Berl)*, 117, 458-465.

Kleven, M. S., Assie, M. B., & Koek, W. (1997). Pharmacological characterization of in vivo properties of putative mixed 5-HT<sub>1A</sub> agonist/5-HT<sub>2A/2C</sub> antagonist anxiolytics. II. Drug discrimination and behavioral observation studies in rats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 282, 747-759.

Knapp, D. J., Overstreet, D. H., & Crews, F. T. (1998). Brain 5-HT<sub>1A</sub> receptor autoradiography and hypothermic responses in rats bred for differences in 8-OH-DPAT sensitivity. *Brain Res.*, 782, 1-10.

Knealing, T. W. & Schaal, D. W. (2002). Disruption of temporally organized behavior by morphine. *J.Exp.Anal.Behav.*, 77, 157-169.

Kraemer, P. J., Randall, C. K., Dose, J. M., & Brown, R. W. (1997). Impact of d-amphetamine on temporal estimation in pigeons tested with a production procedure. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *58*, 323-327.

Krebs, M. O., Sautel, F., Bourdel, M. C., Sokoloff, P., Schwartz, J. C., Olie, J. P. et al. (1998). Dopamine D3 receptor gene variants and substance abuse in schizophrenia. *Mol.Psychiatry*, *3*, 337-341.

Kriem, B., Rostain, J. C., & Abirini, J. H. (1995). Involvement of 5-HT3 receptor in the pressure-induced increase in striatal and accumbens dopamine release and the occurrence of behavioral disorders in free-moving rats. *Neurosci.Lett.*, *197*, 57-60.

Ksir, C. (1976). Rate dependent drug effects: possible state dependency. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *4*, 165-168.

Kufahl, P. R., Li, Z., Risinger, R. C., Rainey, C. J., Wu, G., Bloom, A. S. et al. (2005). Neural responses to acute cocaine administration in the human brain detected by fMRI. *Neuroimage.*, *28*, 904-914.

Kung, M. P., Frederick, D., Mu, M., Zhuang, Z. P., & Kung, H. F. (1995). 4-(2'-Methoxy-phenyl)-1-[2'-(n-2"-pyridinyl)-p-iodobenzamido]-ethyl- piperazine ([125I]p-MPPI) as a new selective radioligand of serotonin-1A sites in rat brain: in vitro binding and autoradiographic studies. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, *272*, 429-437.

Kurata, K., Ashby, C. R., Jr., Oberlender, R., Tanii, Y., Kurachi, M., Rini, N. J. et al. (1996). The characterization of the effect of locally applied N-

methylquipazine, a 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist, on extracellular dopamine levels in the anterior medial prefrontal cortex in the rat: an in vivo microdialysis study. *Synapse*, 24, 313-321.

Kursar, J. D., Nelson, D. L., Wainscott, D. B., & Baez, M. (1994). Molecular cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the human 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub> receptor. *Mol.Pharmacol.*, 46, 227-234.

Le, A. D., Tomkins, D., Higgins, G., Quan, B., & Sellers, E. M. (1997). Effects of 5-HT<sub>3</sub>, D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptor antagonists on ethanol- and cocaine-induced locomotion. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 57, 325-332.

Le, C. M., Choi, D. S., Maroteaux, L., Launay, J. M., & Berger, R. (1996). The 5-HT<sub>2B</sub> receptor gene maps to 2q36.3-2q37.1. *Genomics*, 32, 172-173.

Le, M. C. & Bloch, B. (1991). Rat striatal and mesencephalic neurons contain the long isoform of the D<sub>2</sub> dopamine receptor mRNA. *Brain Res.Mol.Brain Res.*, 10, 283-289.

Lejeune, H., Hermans, I., Mocaer, E., Rettori, M. C., Poignant, J. C., & Richelle, M. (1995). Amineptine, response timing, and time discrimination in the albino rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 51, 165-173.

Lesch, K. P. (2005). Serotonergic gene inactivation in mice: models for anxiety and aggression? *Novartis.Found.Symp.*, 268, 111-140.

Levant, B., Grigoriadis, D. E., & DeSouza, E. B. (1992). Characterization of [3H]quinpirole binding to D2-like dopamine receptors in rat brain. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 262, 929-935.

Levant, B. (1998). Differential distribution of D3 dopamine receptors in the brains of several mammalian species. *Brain Res.*, 800, 269-274.

Levant, B. (2003). Dopamine receptor binding and quantitative autoradiographic study. *Methods Mol.Med.*, 79, 297-313.

Li, X. M., Perry, K. W., & Wong, D. T. (1999). Difference in the in vivo influence of serotonin1A autoreceptors on serotonin release in prefrontal cortex and dorsal hippocampus of the same rat treated with fluoxetine. *Chin J.Physiol*, 42, 53-59.

Lin, S. L., Setya, S., Johnson-Farley, N. N., & Cowen, D. S. (2002). Differential coupling of 5-HT(1) receptors to G proteins of the G(i) family. *Br.J.Pharmacol.*, 136, 1072-1078.

Livingstone, C. D., Strange, P. G., & Naylor, L. H. (1992). Three dimensional models of the rat D2, D3 and D4 dopamine receptors. *Biochem.Soc.Trans.*, 20, 148S.

Lokhandwala, M. F. & Steenberg, M. L. (1984). Evaluation of the effects of SKF 82526 and LY 171555 on presynaptic (DA2) and postsynaptic (DA1) dopamine receptors in rat kidney. *J.Auton.Pharmacol.*, 4, 273-277.

Lopez-Gimenez, J. F., Vilaro, M. T., Palacios, J. M., & Mengod, G. (2001). Mapping of 5-HT<sub>2A</sub> receptors and their mRNA in monkey brain: [<sup>3</sup>H]MDL100,907 autoradiography and in situ hybridization studies. *J.Comp Neurol.*, *429*, 571-589.

Luscher, C., Jan, L. Y., Stoffel, M., Malenka, R. C., & Nicoll, R. A. (1997). G protein-coupled inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron*, *19*, 687-695.

MacDonald, C. J. & Meck, W. H. (2005). Differential effects of clozapine and haloperidol on interval timing in the supraseconds range. *Psychopharmacology (Berl)*, *182*, 232-244.

Machado, A. & Keen, R. (1999). Learning to time (LET) or scalar expectancy theory (SET)? A critical test of two models of timing. *Psychological Science*, *10*, 285-290.

Malapani, C., Pillon, B., Dubois, B., & Agid, Y. (1994). Impaired simultaneous cognitive task performance in Parkinson's disease: a dopamine-related dysfunction. *Neurology*, *44*, 319-326.

Maldonado, R. (2003). The neurobiology of addiction. *J.Neural Transm. Suppl*, 1-14.

Mancilla-Diaz, J. M., Escartin-Perez, R. E., Lopez-Alonso, V. E., Floran-Garduno, B., & Romano-Camacho, J. B. (2005). Role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub>

receptors in the hypophagic effect of 5-HT on the structure of feeding behavior.

*Med.Sci.Monit.*, 11, BR74-BR79.

Mandel, S., Grunblatt, E., Riederer, P., Gerlach, M., Levites, Y., & Youdim, M. B. (2003). Neuroprotective strategies in Parkinson's disease : an update on progress. *CNS.Drugs*, 17, 729-762.

Marek, G. J. & Aghajanian, G. K. (1994). Excitation of interneurons in piriform cortex by 5-hydroxytryptamine: blockade by MDL 100,907, a highly selective 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist. *Eur.J.Pharmacol.*, 259, 137-141.

Maricq, A. V., Roberts, S., & Church, R. M. (1981). Methamphetamine and time estimation. *J.Exp.Psychol.Anim Behav.Process*, 7, 18-30.

Maricq, A. V. & Church, R. M. (1983). The differential effects of haloperidol and methamphetamine on time estimation in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 79, 10-15.

Maricq, A. V., Peterson, A. S., Brake, A. J., Myers, R. M., & Julius, D. (1991). Primary structure and functional expression of the 5HT<sub>3</sub> receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science*, 254, 432-437.

Marona-Lewicka, D. & Nichols, D. E. (1997). 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor agonists potentiate the discriminative cue of (+)-amphetamine in the rat. *Neuropharmacology*, 36, 1471-1475.

Maswood, N., Caldarola-Pastuszka, M., & Uphouse, L. (1997). 5-HT<sub>3</sub> receptors in the ventromedial nucleus of the hypothalamus and female sexual behavior. *Brain Res.*, 769, 13-20.

Matell, M. S. & King, G. R. (1997). 5-HT<sub>3</sub> receptor mediated dopamine release in the nucleus accumbens during withdrawal from continuous cocaine. *Psychopharmacology (Berl)*, 130, 242-248.

Matell, M. S. & Meck, W. H. (2000). Neuropsychological mechanisms of interval timing behavior. *Bioessays*, 22, 94-103.

Matell, M. S., King, G. R., & Meck, W. H. (2004). Differential modulation of clock speed by the administration of intermittent versus continuous cocaine. *Behav. Neurosci.*, 118, 150-156.

Matsumoto, K., Morishige, R., Murakami, Y., Tohda, M., Takayama, H., Sakakibara, I. et al. (2005). Suppressive effects of isorhynchophylline on 5-HT<sub>2A</sub> receptor function in the brain: behavioural and electrophysiological studies. *Eur.J.Pharmacol.*, 517, 191-199.

Matsumoto, M., Hidaka, K., Tada, S., Tasaki, Y., & Yamaguchi, T. (1995). Full-length cDNA cloning and distribution of human dopamine D<sub>4</sub> receptor. *Brain Res.Mol.Brain Res.*, 29, 157-162.

Maura, G., Roccatagliata, E., & Raiteri, M. (1986). Serotonin autoreceptor in rat hippocampus: pharmacological characterization as a subtype of the 5-HT<sub>1</sub> receptor. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, 334, 323-326.

Maurel, S., De, V. J., De, B. R., & Schreiber, R. (1999). 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C/5-HT<sub>1B</sub></sub> receptors are differentially involved in alcohol preference and consummatory behavior in cAA rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *62*, 89-96.

McClure, E. A., Saulsgiver, K. A., & Wynne, C. D. (2005). Effects of D-amphetamine on temporal discrimination in pigeons. *Behav.Pharmacol.*, *16*, 193-208.

Meador-Woodruff, J. H., Mansour, A., Civelli, O., & Watson, S. J. (1991). Distribution of D<sub>2</sub> dopamine receptor mRNA in the primate brain. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, *15*, 885-893.

Meck, W. H. (1986). Affinity for the dopamine D<sub>2</sub> receptor predicts neuroleptic potency in decreasing the speed of an internal clock. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *25*, 1185-1189.

Meck, W. H. & Church, R. M. (1987). Cholinergic modulation of the content of temporal memory. *Behav.Neurosci.*, *101*, 457-464.

Meck, W. H., Smith, R. A., & Williams, C. L. (1988). Pre- and postnatal choline supplementation produces long-term facilitation of spatial memory. *Dev.Psychobiol.*, *21*, 339-353.

Meck, W. H. (1996). Neuropharmacology of timing and time perception. *Brain Res.Cogn Brain Res.*, *3*, 227-242.

Meck, W. H. & Williams, C. L. (1997). Simultaneous temporal processing is sensitive to prenatal choline availability in mature and aged rats. *Neuroreport*, *8*, 3045-3051.

Mendelson, S. D. & Gorzalka, B. B. (1986). 5-HT<sub>1A</sub> receptors: differential involvement in female and male sexual behavior in the rat. *Physiol Behav.*, *37*, 345-351.

Meneses, A. & Hong, E. (1997). Effects of 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists and antagonists in learning. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *56*, 347-351.

Mengod, G., Vilaro, M. T., Raurich, A., Lopez-Gimenez, J. F., Cortes, R., & Palacios, J. M. (1996). 5-HT receptors in mammalian brain: receptor autoradiography and in situ hybridization studies of new ligands and newly identified receptors. *Histochem.J.*, *28*, 747-758.

Miranda, F., Hong, E., Sanchez, H., & Velazquez-Martinez, D. N. (2003). Further evidence that the discriminative stimulus properties of indorenate are mediated by 5-HT 1A/1B/2C receptors. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *74*, 371-380.

Mirjana, C., Baviera, M., Invernizzi, R. W., & Balducci, C. (2004). The serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors antagonist M100907 prevents impairment in attentional performance by NMDA receptor blockade in the rat prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, *29*, 1637-1647.

Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev.*, *78*, 189-225.

Mobini, S., Chiang, T. J., Ho, M. Y., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (2000). Effects of central 5-hydroxytryptamine depletion on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)*, *152*, 390-397.

Molloy, A. G. & Waddington, J. L. (1985). Sniffing, rearing and locomotor responses to the D-1 dopamine agonist R-SK&F 38393 and to apomorphine: differential interactions with the selective D-1 and D-2 antagonists SCH 23390 and metoclopramide. *Eur.J.Pharmacol.*, *108*, 305-308.

Morales, M. & Wang, S. D. (2002). Differential composition of 5-hydroxytryptamine<sub>3</sub> receptors synthesized in the rat CNS and peripheral nervous system. *J.Neurosci.*, *22*, 6732-6741.

Moret, C. & Briley, M. (1997). 5-HT autoreceptors in the regulation of 5-HT release from guinea pig raphe nucleus and hypothalamus. *Neuropharmacology*, *36*, 1713-1723.

Morikawa, H., Manzoni, O. J., Crabbe, J. C., & Williams, J. T. (2000). Regulation of central synaptic transmission by 5-HT(1B) auto- and heteroreceptors. *Mol.Pharmacol.*, *58*, 1271-1278.

Morrissey, G., Ho, M. Y., Wogar, M. A., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (1994). Effect of lesions of the ascending 5-hydroxytryptaminergic pathways on

timing behaviour investigated with the fixed-interval peak procedure.

*Psychopharmacology (Berl)*, 114, 463-468.

Nakada, S. (2000). [Effects of (+/-)-pindolol over increased extracellular 5-HT level induced by fluvoxamine: regional difference in effect among the raphe, dorsal hippocampus and prefrontal cortex as measured by in vivo microdialysis technique]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 20, 51-60.

Nakai, K., Fujii, T., Fujimoto, K., Suzuki, T., & Kawashima, K. (1998). Effect of WAY-100135 on the hippocampal acetylcholine release potentiated by 8-OH-DPAT, a serotonin<sub>1A</sub> receptor agonist, in normal and p-chlorophenylalanine-treated rats as measured by in vivo microdialysis. *Neurosci.Res.*, 31, 23-29.

Nally, R. E., Kinsella, A., Tighe, O., Croke, D. T., Fienberg, A. A., Greengard, P. et al. (2004). Ethologically based resolution of D<sub>2</sub>-like dopamine receptor agonist-versus antagonist-induced behavioral topography in dopamine- and adenosine 3',5'-monophosphate-regulated phosphoprotein of 32 kDa "knockout" mutants congenic on the C57BL/6 genetic background. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 310, 1281-1287.

Neumaier, J. F., Root, D. C., & Hamblin, M. W. (1996). Chronic fluoxetine reduces serotonin transporter mRNA and 5-HT<sub>1B</sub> mRNA in a sequential manner in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology*, 15, 515-522.

Nguyen, T., Bard, J., Jin, H., Taruscio, D., Ward, D. C., Kennedy, J. L. et al. (1991). Human dopamine D5 receptor pseudogenes. *Gene*, 109, 211-218.

Nicholson, R., Small, J., Dixon, A. K., Spanswick, D., & Lee, K. (2003). Serotonin receptor mRNA expression in rat dorsal root ganglion neurons. *Neurosci.Lett.*, 337, 119-122.

Niu, X. & Canlon, B. (2006). The signal transduction pathway for the dopamine D1 receptor in the guinea-pig cochlea. *Neuroscience*, 137, 981-990.

Niznik, H. B. & Van Tol, H. H. (1992). Dopamine receptor genes: new tools for molecular psychiatry. *J.Psychiatry Neurosci.*, 17, 158-180.

O'Leary, D. S., Block, R. I., Turner, B. M., Koeppe, J., Magnotta, V. A., Ponto, L. B. et al. (2003). Marijuana alters the human cerebellar clock. *Neuroreport*, 14, 1145-1151.

O'Neill, M. F., Fernandez, A. G., & Palacios, J. M. (1996). GR 127935 blocks the locomotor and antidepressant-like effects of RU 24969 and the action of antidepressants in the mouse tail suspension test. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 53, 535-539.

Oades, R. D., Sadile, A. G., Sagvolden, T., Viggiano, D., Zuddas, A., Devoto, P. et al. (2005). The control of responsiveness in ADHD by catecholamines: evidence for dopaminergic, noradrenergic and interactive roles. *Dev.Sci.*, 8, 122-131.

Oak, J. N., Oldenhof, J., & Van Tol, H. H. (2000). The dopamine D(4) receptor: one decade of research. *Eur.J.Pharmacol.*, 405, 303-327.

Odum, A. L., Lieving, L. M., & Schaai, D. W. (2002). Effects of D-amphetamine in a temporal discrimination procedure: selective changes in timing or rate dependency? *J.Exp.Anal.Behav.*, 78, 195-214.

oit-Marand, M., Borrelli, E., & Gonon, F. (2001). Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo. *J.Neurosci.*, 21, 9134-9141.

Olivier, B. (2005). Serotonergic mechanisms in aggression. *Novartis.Found.Symp.*, 268, 171-183.

Palacios, J. M., Raurich, A., Mengod, G., Hurt, S. D., & Cortes, R. (1996). Autoradiographic analysis of 5-HT receptor subtypes labeled by [3H]5-CT ([3H]5-carboxamidotryptamine). *Behav.Brain Res.*, 73, 239-243.

Pasqualetti, M., Ori, M., Nardi, I., Castagna, M., Cassano, G. B., & Marazziti, D. (1998). Distribution of the 5-HT<sub>5A</sub> serotonin receptor mRNA in the human brain. *Brain Res.Mol.Brain Res.*, 56, 1-8.

Passani, M. B., Pugliese, A. M., Azzurrini, M., & Corradetti, R. (1994). Effects of DAU 6215, a novel 5-hydroxytryptamine<sub>3</sub> (5-HT<sub>3</sub>) antagonist on electrophysiological properties of the rat hippocampus. *Br.J.Pharmacol.*, 112, 695-703.

Pazos, A. & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res.*, *346*, 205-230.

Peroutka, S. J. & Snyder, S. H. (1979). Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. *Mol.Pharmacol.*, *16*, 687-699.

Peters, J. A., Kelley, S. P., Dunlop, J. I., Kirkness, E. F., Hales, T. G., & Lambert, J. J. (2004). The 5-hydroxytryptamine type 3 (5-HT<sub>3</sub>) receptor reveals a novel determinant of single-channel conductance. *Biochem.Soc.Trans.*, *32*, 547-552.

Petty, R. G. (1999). Prolactin and antipsychotic medications: mechanism of action. *Schizophr.Res.*, *35 Suppl*, S67-S73.

Pliszka, S. R. (2005). The neuropsychopharmacology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol.Psychiatry*, *57*, 1385-1390.

Pompeiano, M., Palacios, J. M., & Mengod, G. (1994). Distribution of the serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor family mRNAs: comparison between 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Brain Res.Mol.Brain Res.*, *23*, 163-178.

Ponzio, F., Algeri, S., Garattini, S., Cioce, V., Rusconi, L., Sacchetti, G. et al. (1987). Behavioural and biochemical studies on 6-methylamino-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazole (14.839JL), a new potent dopaminergic agonist. *Pharmacol.Res.Comm.*, *19*, 555-565.

Przegalinski, E., Papla, I., Siwanowicz, J., & Filip, M. (2004). Effects of 5-HT1B receptor ligands microinjected into the ventral tegmental area on the locomotor and sensitizing effects of cocaine in rats.

*Eur.Neuropsychopharmacol.*, 14, 217-225.

Puglisi-Allegra, S. & Cabib, S. (1988). The D2 dopamine receptor agonist LY171555 induces catalepsy in the mouse. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 30, 765-768.

Puig, M. V., Santana, N., Celada, P., Mengod, G., & Artigas, F. (2004). In vivo excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT3 receptors. *Cereb.Cortex*, 14, 1365-1375.

Quist, J. F., Barr, C. L., Schachar, R., Roberts, W., Malone, M., Tannock, R. et al. (2000). Evidence for the serotonin HTR2A receptor gene as a susceptibility factor in attention deficit hyperactivity disorder (ADHD).

*Mol.Psychiatry*, 5, 537-541.

Radja, F., Daval, G., Emerit, M. B., Gallissot, M. C., Hamon, M., & Verge, D. (1989). Selective irreversible blockade of 5-hydroxytryptamine1A and 5-hydroxytryptamine1C receptor binding sites in the rat brain by 8-MeO-2'-chloro-PAT: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience*, 31, 723-733.

Radja, F., Daval, G., Hamon, M., & Verge, D. (1992). Pharmacological and physicochemical properties of pre-versus postsynaptic 5-

hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor binding sites in the rat brain: a quantitative autoradiographic study. *J.Neurochem.*, 58, 1338-1346.

Rakitin, B. C. (1998). The interaction of timing and choice processes in the production of time intervals. *Dissertation Abstracts International: Section B: the Sciences & Engineering*, 58, 6837, US: Univ Microfilms International.

Ramirez, J. I., Sanchez, H., Lopez, C. M., & Velazquez Martinez, D. N. (1998). Evidence that methiothepin enhances the anorectic effect of indorenate. *Proc.West Pharmacol.Soc.*, 41, 57-58.

Rapp, D. L. & Robbins, T. W. (1976). The effects of d-amphetamine on temporal discrimination in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 51, 91-100.

Rehman, J., Kaynan, A., Christ, G., Valcic, M., Maayani, S., & Melman, A. (1999). Modification of sexual behavior of Long-Evans male rats by drugs acting on the 5-HT<sub>1A</sub> receptor. *Brain Res.*, 821, 414-425.

Rice, H. B. & Corwin, R. L. (2002). mCPP-induced hypophagia in rats is unaffected by the profile of dietary unsaturated fatty acids. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 73, 545-550.

Rick, C. E., Stanford, I. M., & Lacey, M. G. (1995). Excitation of rat substantia nigra pars reticulata neurons by 5-hydroxytryptamine in vitro: evidence for a direct action mediated by 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors. *Neuroscience*, 69, 903-913.

Robbins, T. W. (2005). Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J.Comp Neurol.*, 493, 140-146.

Roth, B. L., Willins, D. L., Kristiansen, K., & Kroeze, W. K. (1998). 5-Hydroxytryptamine<sub>2</sub>-family receptors (5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub>, 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub>, 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub>): where structure meets function. *Pharmacol.Ther.*, 79, 231-257.

Saito, H., Matsumoto, M., Togashi, H., & Yoshioka, M. (1996). Functional interaction between serotonin and other neuronal systems: focus on in vivo microdialysis studies. *Jpn.J.Pharmacol.*, 70, 203-205.

Saitoh, O., Yuruzume, E., Watanabe, K., & Nakata, H. (1997). Molecular identification of a G protein-coupled receptor family which is expressed in planarians. *Gene*, 195, 55-61.

Sakaue, M., Ago, Y., Sowa, C., Sakamoto, Y., Nishihara, B., Koyama, Y. et al. (2002). Modulation by 5-HT<sub>2A</sub> receptors of aggressive behavior in isolated mice. *Jpn.J.Pharmacol.*, 89, 89-92.

Salmi, P. & Ahlenius, S. (1998). Evidence for functional interactions between 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in rat thermoregulatory mechanisms. *Pharmacol.Toxicol.*, 82, 122-127.

Sanchez, H. & Velazquez-Martinez, D. N. (2001). Discriminative stimulus properties of indorenate, a 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> agonist: a study in rats. *J.Psychopharmacol.*, 15, 29-36.

Sanders, A. R., Cao, Q., Taylor, J., Levin, T. E., Badner, J. A., Cravchik, A. et al. (2001). Genetic diversity of the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene. *Genomics*, 72, 1-14.

Santi, A., Coppa, R., & Ross, L. (2001). Effects of the dopamine D2 agonist, quinpirole, on time and number processing in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 68, 147-155.

Santi, A., Coyle, J., Coppa, R., & Ross, L. (1998). The timing of auditory and visual signals by pigeons: Differential sensitivity to intertrial interval duration. *Learning & Motivation*, 29, US, <http://www>.

Sarhan, H. & Fillion, G. (1999). Differential sensitivity of 5-HT1B auto and heteroreceptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, 360, 382-390.

Sari, Y., Lefevre, K., Bancila, M., Quignon, M., Miquel, M. C., Langlois, X. et al. (1997). Light and electron microscopic immunocytochemical visualization of 5-HT1B receptors in the rat brain. *Brain Res.*, 760, 281-286.

Sari, Y. (2004). Serotonin1B receptors: from protein to physiological function and behavior. *Neurosci.Biobehav.Rev.*, 28, 565-582.

Schmidt, C. J. & Black, C. K. (1989). The putative 5-HT3 agonist phenylbiguanide induces carrier-mediated release of [3H]dopamine. *Eur.J.Pharmacol.*, 167, 309-310.

Schmitt, H., Laubie, M., Poignant, J. C., Krikorian, A., Evrard, Y., Freyria, J. L. et al. (1978). [New therapeutic indications for a dopamine antagonist, Piribedyl]. *Sem.Hop.*, 54, 325-334.

Schmuck, K., Ullmer, C., Engels, P., & Lubbert, H. (1994). Cloning and functional characterization of the human 5-HT<sub>2B</sub> serotonin receptor. *FEBS Lett.*, 342, 85-90.

Schoeffter, P., Bobirnac, I., Boddeke, E., & Hoyer, D. (1997). Inhibition of cAMP accumulation via recombinant human serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors: considerations on receptor effector coupling across systems. *Neuropharmacology*, 36, 429-437.

Schreiber, R., Brocco, M., Lefebvre de, L. B., Monneyron, S., & Millan, M. J. (1995). A drug discrimination analysis of the actions of novel serotonin<sub>1A</sub> receptor ligands in the rat using the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 275, 822-831.

Sershen, H., Hashim, A., Harsing, L., & Lajtha, A. (1991). Chronic nicotine-induced changes in dopaminergic system: effect on behavioral response to dopamine agonist. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 39, 545-547.

Shalom, G., Gur, E., Van de Kar, L. D., & Newman, M. E. (2004). Repeated administration of the 5-HT<sub>1B</sub> receptor antagonist SB-224289 blocks the desensitisation of 5-HT<sub>1B</sub> autoreceptors induced by fluoxetine in rat frontal cortex. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, 370, 84-90.

Shankar, R. P., Karan, R. S., Handu, S. S., & Bhargava, V. K. (2000). Effect of the 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist ondansetron on amphetamine-induced hyperactivity and stereotypy in rats. *Indian J. Physiol Pharmacol.*, *44*, 355-358.

Sharma, A., Punhani, T., & Fone, K. C. (1997). Distribution of the 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptor protein in adult rat brain and spinal cord determined using a receptor-directed antibody: effect of 5,7-dihydroxytryptamine. *Synapse*, *27*, 45-56.

Sharp, T., Backus, L. I., Hjorth, S., Bramwell, S. R., & Grahame-Smith, D. G. (1990). Further investigation of the in vivo pharmacological properties of the putative 5-HT<sub>1A</sub> antagonist, BMY 7378. *Eur. J. Pharmacol.*, *176*, 331-340.

Simon-Chazottes, D., Cloez-Tayarani, I., Fillion, M. P., Guenet, J. L., & Fillion, G. (1993). The serotonin 5-HT<sub>1B</sub> receptor subtype (Htr1b) gene maps to mouse chromosome 9. *Mamm. Genome*, *4*, 397-398.

SKINNER, B. F. & MORSE, W. H. (1957). Concurrent activity under fixed-interval reinforcement. *J. Comp Physiol Psychol.*, *50*, 279-281.

Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M. P., Bouthenet, M. L., & Schwartz, J. C. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D<sub>3</sub>) as a target for neuroleptics. *Nature*, *347*, 146-151.

Spier, A. D. & Lummis, S. C. (2002). Immunological characterization of 5-HT<sub>3</sub> receptor transmembrane topology. *J. Mol. Neurosci.*, *18*, 169-178.

Stam, N. J., Vanderheyden, P., van, A. C., Klomp, J., de, B. T., van Delft, A. M. et al. (1994). Genomic organisation and functional expression of the gene encoding the human serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor. *Eur.J.Pharmacol.*, 269, 339-348.

Starr, B. S. & Starr, M. S. (1986). Differential effects of dopamine D1 and D2 agonists and antagonists on velocity of movement, rearing and grooming in the mouse. Implications for the roles of D1 and D2 receptors. *Neuropharmacology*, 25, 455-463.

Stenfors, C. & Ross, S. B. (2002). Evidence for involvement of 5-hydroxytryptamine(1B) autoreceptors in the enhancement of serotonin turnover in the mouse brain following repeated treatment with fluoxetine. *Life Sci.*, 71, 2867-2880.

Stubbs, A. (1968). The discrimination of stimulus duration by pigeons. *J.Exp.Anal.Behav.*, 11, 223-238.

Suhr, R., Balse, E., Haaf, A., Kelche, C., Cassel, J. C., & Jackisch, R. (1999). Modulation of acetylcholine and 5-hydroxytryptamine release in hippocampal slices of rats with fimbria-fornix lesions and intrahippocampal grafts containing cholinergic and/or serotonergic neurons. *Brain Res.Bull.*, 50, 15-25.

Sunahara, R. K., Niznik, H. B., Weiner, D. M., Stormann, T. M., Brann, M. R., Kennedy, J. L. et al. (1990). Human dopamine D1 receptor encoded by an intronless gene on chromosome 5. *Nature*, 347, 80-83.

Sutton, M. A., Rolfe, N. G., & Beninger, R. J. (2001). Biphasic effects of 7-OH-DPAT on the acquisition of responding for conditioned reward in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 69, 195-200.

Suzuki, M., Matsuda, T., Asano, S., Somboonthum, P., Takuma, K., & Baba, A. (1995). Increase of noradrenaline release in the hypothalamus of freely moving rat by postsynaptic 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor activation. *Br.J.Pharmacol.*, 115, 703-711.

Swanson, J. M., Sunohara, G. A., Kennedy, J. L., Regino, R., Fineberg, E., Wigal, T. et al. (1998). Association of the dopamine receptor D4 (DRD4) gene with a refined phenotype of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a family-based approach. *Mol.Psychiatry*, 3, 38-41.

Szabo, S. T. & Blier, P. (2002). Effects of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) reuptake inhibition plus 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonism on the firing activity of norepinephrine neurons. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 302, 983-991.

Tataczynska, E., ntkiewicz-Michaluk, L., Klodzinska, A., Stachowicz, K., & Chojnacka-Wojcik, E. (2005). Antidepressant-like effect of the selective 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP 94253: a possible mechanism of action. *Eur.J.Pharmacol.*, 516, 46-50.

Todd, R. D., Neuman, R. J., Lobos, E. A., Jong, Y. J., Reich, W., & Heath, A. C. (2001). Lack of association of dopamine D4 receptor gene polymorphisms

with ADHD subtypes in a population sample of twins. *Am.J.Med.Genet.*, 105, 432-438.

Treseder, S. A., Smith, L. A., & Jenner, P. (2000). Endogenous dopaminergic tone and dopamine agonist action. *Mov Disord.*, 15, 804-812.

Turner, T. J., Mokler, D. J., & Luebke, J. I. (2004). Calcium influx through presynaptic 5-HT<sub>3</sub> receptors facilitates GABA release in the hippocampus: in vitro slice and synaptosome studies. *Neuroscience*, 129, 703-718.

Uetz, P., Abdelatty, F., Villarroel, A., Rappold, G., Weiss, B., & Koenen, M. (1994). Organisation of the murine 5-HT<sub>3</sub> receptor gene and assignment to human chromosome 11. *FEBS Lett.*, 339, 302-306.

Undie, A. S., Weinstock, J., Sarau, H. M., & Friedman, E. (1994). Evidence for a distinct D1-like dopamine receptor that couples to activation of phosphoinositide metabolism in brain. *J.Neurochem.*, 62, 2045-2048.

Uphouse, L. & Caldarola-Pastuszka, M. (1993). Female sexual behavior following intracerebral infusion of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist, 8-OH-DPAT, into the medial preoptic area. *Brain Res.*, 601, 203-208.

Vaidya, V. A., Marek, G. J., Aghajanian, G. K., & Duman, R. S. (1997). 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J.Neurosci.*, 17, 2785-2795.

Vallone, D., Picetti, R., & Borrelli, E. (2000). Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci.Biobehav.Rev.*, *24*, 125-132.

Van, O. D., Megens, A., Meert, T., Luyten, W. H., & Leysen, J. E. (2002). Role of 5-HT(2) receptors in the tryptamine-induced 5-HT syndrome in rats. *Behav.Pharmacol.*, *13*, 313-318.

Velazquez-Martinez, D. N., Lopez, C. M., Sanchez, H., Ramirez, J. I., & Hong, E. (1999). Discriminative stimulus properties of indorenate, a serotonin agonist. *J.Psychiatry Neurosci.*, *24*, 122-130.

Verge, D., Daval, G., Marcinkiewicz, M., Patey, A., el, M. S., Gozlan, H. et al. (1986). Quantitative autoradiography of multiple 5-HT1 receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J.Neurosci.*, *6*, 3474-3482.

Verma, A. & Kulkarni, S. K. (1992). D1/D2 dopamine and N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor participation in experimental catalepsy in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, *109*, 477-483.

Vickers, S. P., Easton, N., Malcolm, C. S., Allen, N. H., Porter, R. H., Bickerdike, M. J. et al. (2001). Modulation of 5-HT(2A) receptor-mediated head-twitch behaviour in the rat by 5-HT(2C) receptor agonists. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, *69*, 643-652.

Viggiano, D., Ruocco, L. A., & Sadile, A. G. (2003). Dopamine phenotype and behaviour in animal models: in relation to attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci.Biobehav.Rev.*, *27*, 623-637.

Vincent, S. L., Khan, Y., & Benes, F. M. (1993). Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. *J.Neurosci.*, *13*, 2551-2564.

Wanibuchi, F. & Usuda, S. (1990). Synergistic effects between D-1 and D-2 dopamine antagonists on catalepsy in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, *102*, 339-342.

Weber, J. T., Hayataka, K., O'Connor, M. F., & Parker, K. K. (1997). Rabbit Cerebral Cortex 5HT1a Receptors. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, *117*, 19-24.

Weinshank, R. L., Adham, N., Macchi, M., Olsen, M. A., Branchek, T. A., & Hartig, P. R. (1991). Molecular cloning and characterization of a high affinity dopamine receptor (D1 beta) and its pseudogene. *J.Biol.Chem.*, *266*, 22427-22435.

Weiss, B., Mertz, A., Schrock, E., Koenen, M., & Rappold, G. (1995). Assignment of a human homolog of the mouse Htr3 receptor gene to chromosome 11q23.1-q23.2. *Genomics*, *29*, 304-305.

Westphal, R. S., Backstrom, J. R., & Sanders-Bush, E. (1995). Increased basal phosphorylation of the constitutively active serotonin 2C receptor accompanies agonist-mediated desensitization. *Mol.Pharmacol.*, *48*, 200-205.

Willins, D. L., Deutch, A. Y., & Roth, B. L. (1997). Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors are expressed on pyramidal cells and interneurons in the rat cortex. *Synapse*, *27*, 79-82.

Winstanley, C. A., Theobald, D. E., Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2006). Double dissociation between serotonergic and dopaminergic modulation of medial prefrontal and orbitofrontal cortex during a test of impulsive choice. *Cereb.Cortex*, *16*, 106-114.

Wogar, M. A., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (1992). Impaired acquisition of temporal differentiation performance following lesions of the ascending 5-hydroxytryptaminergic pathways. *Psychopharmacology (Berl)*, *107*, 373-378.

Wolf, A., Caldarola-Pastuszka, M., DeLashaw, M., & Uphouse, L. (1999). 5-HT<sub>2C</sub> receptor involvement in female rat lordosis behavior. *Brain Res.*, *825*, 146-151.

Wolf, M. E. & Kapatos, G. (1989). Stimulation of D<sub>2</sub> dopamine receptors decreases intracellular calcium levels in rat anterior pituitary cells but not striatal synaptosomes: a flow cytometric study using indo-1. *Synapse*, *4*, 353-370.

Wolfe, S. E. & Morris, S. J. (1999). Dopamine D2 receptor isoforms expressed in AtT20 cells differentially couple to G proteins to acutely inhibit high voltage-activated calcium channels. *J.Neurochem.*, 73, 2375-2382.

Wolff, M. C. & Leander, J. D. (1997). Differentiation of 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands by drug discrimination. *Eur.J.Pharmacol.*, 333, 113-122.

Yamashita, T. & Isa, T. (2003). Ca<sup>2+</sup>-dependent inward current induced by nicotinic receptor activation depends on Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-CaMKII pathway in dopamine neurons. *Neurosci.Res.*, 47, 225-232.

Yamauchi, M., Tatebayashi, T., Nagase, K., Kojima, M., & Imanishi, T. (2004). Chronic treatment with fluvoxamine desensitizes 5-HT<sub>2C</sub> receptor-mediated hypolocomotion in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 78, 683-689.

Yan, Q. S. & Yan, S. E. (2001). Activation of 5-HT(1B/1D) receptors in the mesolimbic dopamine system increases dopamine release from the nucleus accumbens: a microdialysis study. *Eur.J.Pharmacol.*, 418, 55-64.

Zharikova, A. D. & Godukhin, O. V. (1985). [Presynaptic autoregulation of dopamine release]. *Fiziol.Zh.SSSR Im I.M.Sechenova*, 71, 105-112.

Zhou, F. C., Chiang, Y. H., & Wang, Y. (1996). Constructing a new nigrostriatal pathway in the Parkinsonian model with bridged neural transplantation in substantia nigra. *J.Neurosci.*, 16, 6965-6974.

Zuch, C. L. & Cory-Slechta, D. A. (2001). Stimulus properties of 7-OH-DPAT versus auto- and postsynaptic receptor-specific doses of quinpirole. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 68, 469-479.