



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



**Instituto de Fisiología  
Laboratorio de Neuromodulación**

**MODULACIÓN SEROTONINÉRGICA DE LAS CORRIENTES  
ACTIVADAS POR GLUTAMATO EN NEURONAS PIRAMIDALES  
DISOCIADAS DE CORTEZA PREFRONTAL DE RATA DEL MODELO  
DHS (DEVELOPMENTAL HYPERSEROTONEMIA)**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**PRESENTA:  
Q.F.B. LUIS GUSTAVO HERNÁNDEZ CARBALLO**

**DIRECTOR DE TESIS  
D.C. JORGE LUIS VALENTE FLORES HERNÁNDEZ**

**Julio de 2015**

## Agradecimientos

Una página, un par de párrafos, unas cuanta líneas o un centenar de letras, no pueden ser suficientes para expresar el modo en que subyacen tantas historias y una docena de anécdotas en este trabajo, y mucho menos alcanzan para denotar siquiera un ápice del agradecimiento que siento hacia todos aquellos que me apoyaron y animaron para continuar en este camino que si no apenas comienza, aún tiene mucho trayecto por ser recorrido. Sin embargo, merecen honor quienes honor merecen, por lo cual la mención tiene que hacerse, y no por obligación sino por gusto de dejar plasmados sus nombres en este trabajo en el que irrefutablemente parte de cada uno de ellos se encuentra.

De tal modo quiero plasmar aquí el nombre de mi asesor y mentor, el Dr. Jorge Luis Valente Flores Hernández, quien creyó en mi proyecto, me animo, y anima, siempre a llevarlo a buen fin y me ha instruido para que los resultados sean los mejores. Pero sobre todo por su apoyo y consejos que como amigo me ha dado dejándome nunca caer y ni siquiera languidecer.

A mis asesores, el Dr. Elías Manjarrez y las doctoras Ma. del Rosario Vega y Ma. de Jesús Gómez, quisiera hacerles una mención especial, pues sin sus consejos e instrucción éste proyecto no tendría la forma y nivel que merece, ni yo tendría el enfoque que la bella materia de la fisiología amerita. El nombre de los tres en éste trabajo se hace notar, pero en el autor del mismo el nombre del Dr. Elías resuena, pues su apoyo expreso nunca falto y enfatizo el “expreso” pues apoyo ni apertura de ninguno de los tres pude echar de menos nunca.

El nombre del Dr. Daniel Limón y su equipo, así como, por su parte, el de todo el personal del Bioterio Claude Bernard, no puede faltar en éste trabajo, ya que me brindaron valiosos consejos y ayuda.

A mis compañeros del Laboratorio de Neuromodulación que me han ayudado, aconsejado y hasta regañado, pero sobre todo enseñado a conducirme en este, para mí, nuevo ambiente de electrodos, amplificadores y células vivas (la mayoría del tiempo).

A los Animaniacs (Diana, Monserrat, Cesar y Luis), pues con ustedes recorrí esta parte del camino y realmente me acompañaron en él, me ayudaron a crecer y, tanto, a reír.

A mis amigos Doglas, Norma y Francisco pues a pesar de que existen kilómetros de distancia nunca les ha importado ello para brindarme una palmada de ánimo o un buen regaño que me regrese a mis cabales.

Y por último, pero no menos importante, sino al contrario, a mis padres Martha Alicia Carballo Jiménez e Higinio Hernández Quezada, del mismo modo que a mi tío Ángel Alfonso Carballo Jiménez y a Laura Amalia Martínez Alcántar, pues han estado conmigo cada segundo de éste largo camino, dándome la fuerza, los recursos y sobre todo el ánimo para continuar y no desfallecer pese a sus propios problemas, cansancios y desvelos.

A todos ustedes honor, porque honor merecen y un muy profundo:

¡Gracias!

# Índice

|   |            |
|---|------------|
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS .....</b>                           | <b>V</b>   |
| FIGURAS .....   | V          |
| TABLAS .....  | V          |
| <b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>                                    | <b>VI</b>  |
| <b>ABREVIATURAS .....</b>   | <b>VII</b> |
| <b>RESUMEN .....</b>  | <b>1</b>   |
| <b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>                                       | <b>2</b>   |
| 1.1 CORTEZA PREFRONTAL.....                                       | 2          |
| 1.1.1 <i>Definición y generalidades</i> .....                     | 2          |
| 1.1.2 <i>Función y Relación con la conducta social</i> .....      | 3          |
| 1.1.3 <i>Arquitectura y composición celular</i> .....             | 6          |
| 1.1.4 <i>Modulación</i> .....                                     | 8          |
| 1.2 SEROTONINA .....  | 10         |
| 1.2.1 <i>Generalidades</i> .....                                  | 10         |
| 1.2.2 <i>Receptores Serotoninérgicos</i> .....                    | 12         |
| 1.3 MODULACIÓN SEROTONINÉRGICA DE LA CORTEZA PREFRONTAL.....      | 12         |
| 1.4 SEROTONINA DURANTE EL NEURODESARROLLO .....                   | 17         |
| 1.5 MODELO DE HIPERSEROTONINEMIA DURANTE EL DESARROLLO (DHS)..... | 17         |
| <b>2 JUSTIFICACIÓN.....</b>                                       | <b>20</b>  |
| <b>3 HIPÓTESIS .....</b>  | <b>21</b>  |
| <b>4 OBJETIVOS .....</b>  | <b>22</b>  |
| 4.1 GENERAL.....  | 22         |
| 4.2 PARTICULARES .....  | 22         |
| <b>5 METODOLOGÍA.....</b>   | <b>23</b>  |
| 5.1 MODELO DE HIPERSEROTONINEMIA DEL DESARROLLO (DHS) .....       | 23         |
| 5.1.1 <i>Elección de la droga</i> .....                           | 23         |
| 5.1.2 <i>Dosis</i> .....  | 23         |
| 5.1.3 <i>Inyección</i> .....                                      | 24         |
| 5.2 PRUEBAS DE COMPORTAMIENTO .....                               | 25         |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 5.2.1     | <i>Regreso a la madre</i> .....   | 25        |
| 5.2.2     | <i>Interacción Social</i> .....   | 25        |
| 5.3       | DISOCIACIÓN AGUDA .....   | 26        |
| 5.4       | TÉCNICA CÉLULA COMPLETA EN PROTOCOLOS DE FIJACIÓN DE VOLTAJE (WHOLE-CELL RECORDINGS)..... | 28        |
| 5.5       | APLICACIÓN DE FÁRMACOS.....   | 29        |
| 5.6       | PROTOCOLOS ELECTROFISIOLÓGICOS. ....  | 30        |
| 5.7       | ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....  | 31        |
| <b>6</b>  | <b>DIAGRAMA DE TRABAJO</b> .....  | <b>32</b> |
| 6.1       | MODELO DE HIPERSEROTONINÉMIA DEL DESARROLLO (DHS) .....                                   | 32        |
| 6.2       | DISOCIACIÓN DE NEURONAS .....   | 33        |
| <b>7</b>  | <b>RESULTADOS</b> .....   | <b>34</b> |
| 7.1       | PRUEBAS DE COMPORTAMIENTO .....   | 34        |
| 7.1.1     | <i>Regreso a la Madre</i> .....   | 34        |
| 7.1.2     | <i>Interacción Social</i> .....   | 35        |
| 7.2       | ANÁLISIS ELECTROFISIOLÓGICO .....   | 38        |
| <b>8</b>  | <b>DISCUSIÓN</b> .....  | <b>45</b> |
| <b>9</b>  | <b>RESUMEN DE RESULTADOS</b> .....  | <b>52</b> |
| <b>10</b> | <b>CONCLUSIONES</b> .....   | <b>53</b> |
| <b>11</b> | <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....   | <b>54</b> |

# Índice de Figuras y Tablas

## *Figuras*

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1: Corteza Prefrontal.</b> .....  | 2  |
| <b>Figura 2: Corteza Prefrontal de Rata.</b> .....  | 3  |
| <b>Figura 3: Conectividad entre regiones críticas para los procesos Implícitos y Explícitos de la cognición Social.</b> ..... | 5  |
| <b>Figura 4: Representación Gráfica de las capas de la CPF.</b> .....   | 7  |
| <b>Figura 5: Sistema Serotoninérgico.</b> .....   | 11 |
| <b>Figura 6: Regulación Serotoninérgica de la CPF.</b> .....  | 16 |
| <b>Figura 7: Base Teórica del Modelo DHS.</b> .....   | 18 |
| <b>Figura 8: Corte sagital de cerebro de rata</b> .....   | 27 |
| <b>Figura 9: Viabilidad de las células.</b> .....   | 38 |

## *Tablas*

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1: Resultados de las pruebas de conducta.</b> .....     | 36 |
| <b>Tabla 2: Resultados del estudio electrofisiológico.</b> ..... | 44 |

# Índice de Gráficos

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Gráfico 1: Prueba de regreso a la madre.....</b>                                 | <b>35</b> |
| <b>Gráfico 2: Resultados de la prueba de Interacción Social.....</b>                | <b>37</b> |
| <b>Gráfico 3: Corrientes activadas por glutamato (100 <math>\mu</math>M). .....</b> | <b>39</b> |
| <b>Gráfico 4: Densidad de Corriente.....</b>  | <b>40</b> |
| <b>Gráfico 5: Modulación serotoninérgica del pico de corriente.. .....</b>          | <b>41</b> |
| <b>Gráfico 6: Modulación serotoninérgica del estado estacionario. ....</b>          | <b>41</b> |
| <b>Gráfico 7: Relación EE/P. ....</b>   | <b>42</b> |
| <b>Gráfico 8: Constante de Tiempo de Desensibilización. ....</b>                    | <b>43</b> |
| <b>Gráfico 9: Constante de Tiempo de Recuperación. ....</b>                         | <b>43</b> |

## Abreviaturas

|        |  |
|--------|--|
| 5-HT   | 5-Hidroxitriptamina, Serotonina  |
| 5-MT   | 5-Metoxitriptamina   |
| 5-TPH  | 5-Hidroxitriptófano  |
| AAAD   | L-Aminoácido Aromático Descarboxilasa,<br>5-Hidroxitriptófano Descarboxilasa |
| Ach    | Acetilcolina   |
| AHP    | Posthiperpolarización  |
| AID    | Cortezas Insular Agranular Dorsal  |
| AIV    | Cortezas Insular Agranular Ventral   |
| AMPA   | $\alpha$ -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazol-propionato                     |
| BF     | Prosencéfalo Basal   |
| CAMKII | Proteína cinasa dependiente del complejo $Ca^{2+}$ - Calmodulina             |
| cAMP   | AMP cíclico  |
| CCA    | Corteza Del Cíngulo Anterior   |
| Cg1    | Cingulada Anterior   |
| CGRP   | Péptido Relacionado Con El Gen De La Calcitonina                             |
| CLi    | Núcleo Caudal Lineal   |
| Cm     | Capacitancia de Membrana   |
| COF    | Corteza Prefrontal Orbitofrontal   |
| CPFDL  | Corteza Prefrontal Dorsolateral  |
| CPFDM  | Corteza Prefrontal Dorsomedial   |
| CPFVL  | Corteza Prefrontal Ventrolateral   |
| CPFVM  | Corteza Prefrontal Ventromedial  |
| DA     | Dopamina   |
| DHS    | Hiperserotoninemia Durante El Desarrollo                                     |
| DOI    | 2, 5-dimetoxi-4-yodo-anfetamina  |
| DR     | Rafé Dorsal  |

|        |  |
|--------|--|
| EBSS   | solución salina balanceada de Earle                    |
| EE/P   | Estado Estacionario / Pico                             |
| EPSC's | Corrientes Postsinápticas Excitatorias                 |
| GABA   | Ácido $\gamma$ -Aminobutírico                          |
| GD     | Día Gestacional  |
| HBSS   | solución salina balanceada de Hanks                    |
| HEPES  | Ácido 4-(2-Hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico     |
| IAHP   | Corriente De Posthiperpolarización                     |
| IL     | Corteza Infralímbica                                   |
| IPSC's | Corrientes Postsinápticas Inhibitorias                 |
| ISRS's | Inhibidores Selectivos de la Recaptación De Serotonina |
| KA     | Kainato  |
| LC     | <i>Locus Caeruleus</i>                                 |
| LO     | Corteza Lateral Orbital                                |
| mGluR  | Receptores Metabotrópicos Del Glutamato                |
| MnR    | Rafé Medial  |
| MO     | Corteza Medial Orbital                                 |
| NA     | Noradrenalina  |
| NMDA   | N-metil-D-aspartato                                    |
| NR     | Núcleos Del Rafé                                       |
| OT     | Oxitocina  |
| PFC    | Corteza Prefrontal                                     |
| PLC    | Fosfolipasa C  |
| PND    | Día Post-Natal   |
| PrC    | Cortezas Precentral                                    |
| PrL    | Cortezas Prelímbica                                    |
| Ra     | Resistencia de Acceso                                  |
| Rm     | Resistencia de Membrana                                |
| RMg    | Nucleo Del Rafé <i>Magnus</i>                          |
| ROb    | Nucleo Del Rafé <i>Obscurus</i>                        |

|     |                                 |
|-----|---------------------------------|
| RPa | Nucleo Del Rafé <i>Pallidus</i> |
| SNC | Sistema Nervioso Central        |
| ToM | Teoría de la Mente              |
| TPH | Triptófano hidroxilasa          |
| VLO | Corteza Ventral Lateral Orbital |
| VO  | Corteza Ventral Orbital         |
| VTA | Área Tegmental Ventral          |

## Resumen

La corteza prefrontal (CPF) se ha relacionado fuertemente con conductas complejas como la flexibilidad, la inhibición de conductas y la interacción social. Dichas tareas son posibles gracias a la flexibilidad dinámica de las interconexiones tanto de la CPF con otras áreas, como dentro de la misma, la cual es llevada a cabo a través de la modulación de las señales excitatorias e inhibitorias que generan las dos principales poblaciones neuronales: neuronas piramidales las cuales son glutamatérgicas y componen el 80% de la población neuronal, e interneuronas GABAérgicas que componen el 20% restante.

Entre los moduladores de la excitabilidad de la CPF podemos resaltar el papel de la serotonina la cual regula la neurotransmisión excitatoria glutamatérgica reduciendo o incrementando las corrientes activadas por glutamato principalmente por medio de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub>, respectivamente. Además, durante el desarrollo fetal, la serotonina juega un importante papel autoregulatorio, además de en la neurogénesis, migración y maduración neuronal, por lo cual alteraciones de su concentración durante ésta etapa puede derivar en anomalías de la corteza cerebral, así como de la conducta, lo cual es la base teórica del modelo de hiperserotoninemia durante el desarrollo (DHS).

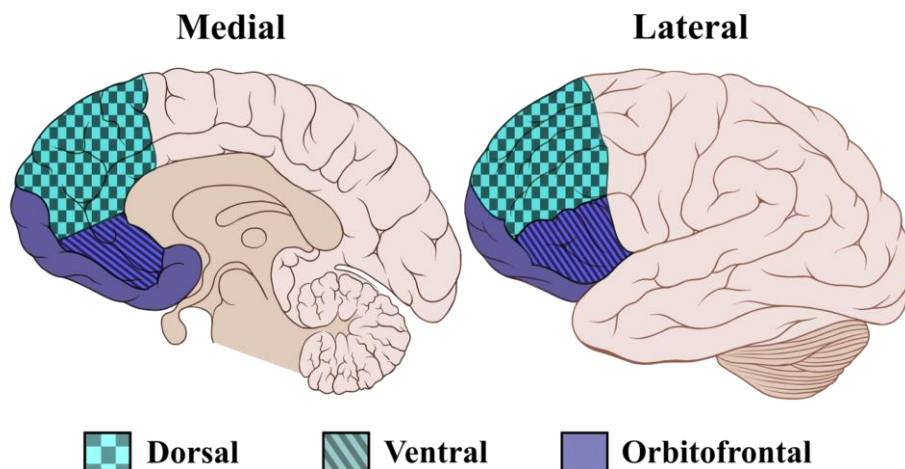
En el presente trabajo se estudió el impacto de alterar los niveles de serotonina de las madres gestantes en la conducta social y la modulación de las corrientes activadas por glutamato de las crías, por medio de la imitación de una hiperserotoninemia materna al administrarles un agonista serotoninérgico. De éste modo se encontró que el tratamiento administrado provoca cambios permanentes/de larga duración, los cuales se efectúan principalmente en la fase gestacional de las crías y no de manera postnatal. Entre dichos cambios, durante las pruebas conductuales se encontró una disminución de la conducta social tanto a edad infantil como juvenil. Por otra parte, durante el estudio electrofisiológico, se notó una reducción del pico y el estado estacionario de las corrientes activadas por glutamato en las neuronas piramidales de CPF de las crías. Sugiriendo así los resultados mostrados en éste trabajo que la alteración de los niveles de serotonina maternos durante el desarrollo son capaces de producir cambios tanto conductuales como electrofisiológicos en las crías.

# 1 Introducción

## 1.1 Corteza prefrontal

### 1.1.1 Definición y generalidades

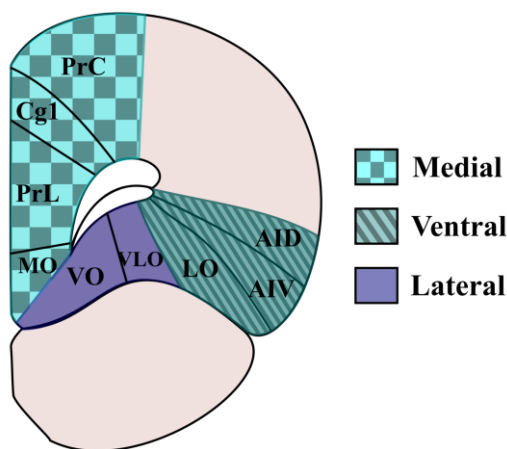
La región más anterior del lóbulo frontal de los mamíferos es denominada Corteza Prefrontal (CPF), la cual se caracteriza por ser la parte de la corteza cerebral que recibe más proyecciones de núcleo dorso medial del tálamo (Dalley, Cardinal, & Robbins, 2004; Fuster, 2008; Miller, 1999; Uylings, Groenewegen, & Kolb, 2003). La CPF es una colección de áreas corticales interconectadas, que basándose en estudios de referencia anatómicos pueden dividirse de manera general en regiones dorsolateral (CPF<sub>DL</sub>), ventrolateral (CPF<sub>VL</sub>), dorsomedial (CPF<sub>DM</sub>), ventromedial (CPF<sub>VM</sub>) y orbitofrontal (COF). Dichas regiones, envían y reciben proyecciones de prácticamente todos los sistemas corticales sensoriales y motores, así como muchas estructuras subcorticales (Forbes & Grafman, 2010; Fuster, 2008; Miller & Cohen, 2001; Miller & Wallis, 2013).



**Figura 1: Corteza Prefrontal.** Región más anterior del lóbulo frontal la cual puede dividirse anatómicamente en regiones dorsolateral (CPF<sub>DL</sub>), ventrolateral (CPF<sub>VL</sub>), dorsomedial (CPF<sub>DM</sub>), ventromedial (CPF<sub>VM</sub>) y orbitofrontal (COF).

En la rata la CPF se divide en tres áreas principales, la primera que puede delinearse comprendiendo la corteza ventral orbital (VO) y ventral lateral orbital (VLO). La segunda es la región lateral que incluye las cortezas insular agranular dorsal y ventral (AID, AIV) y

la corteza lateral orbital (LO). Y finalmente, es la división frontal medial, la cual puede subdividirse en región dorsal, que incluye las cortezas precentral (PrC) y la cingulada anterior (Cg1); y el componente ventral que incluye las cortezas prelímbica (PrL), infralímbica (IL) y medial orbital (MO). Aunque no está clara la función de esta subdivisión en la rata, estudios sobre el patrón de proyecciones de la zona PL e IL, infiere que la primera participaría más en las funciones límbicas cognitivas (homologas a la CPFDL de primates), y la segunda controlaría actividades viscerales-autónomas (homologas a la CPF orbitomedial de primates) (Dalley et al., 2004; Fuster, 2008; Vertes, 2004).



**Figura 2: Corteza Prefrontal de Rata.** En la rata la CPF se divide en tres áreas principales: Medial, la cual incluye las cortezas precentral (PrC), cingulada anterior (Cg1), prelímbica (PrL), infralímbica (IL) y medial orbital (MO); Ventral, comprendiendo la corteza ventral orbital (VO) y ventral lateral orbital (VLO); y la región Lateral que incluye las cortezas insular agranular dorsal y ventral (AID, AIV) y la corteza lateral orbital (LO).

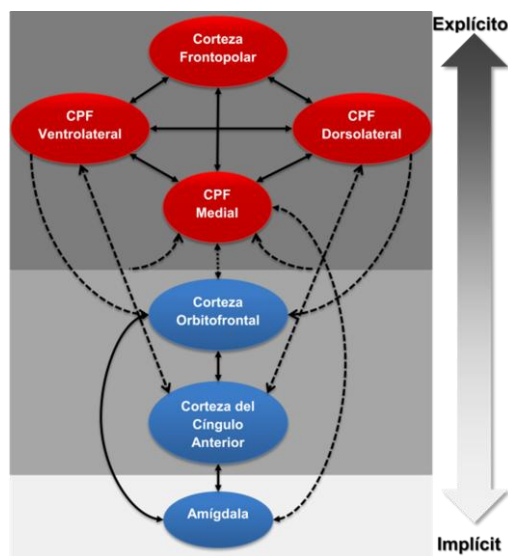
### 1.1.2 Función y Relación con la conducta social

La CPF es fuertemente asociada con conductas complejas como la atención, la inhibición de distractores, la evaluación e interpretación de información dentro del contexto de experiencias pasadas, almacenamiento de información semántica sobre uno mismo y otros, y la organización temporal de las acciones o las conductas, así como el juicio moral y los procesos sociales cognitivos (Adolphs, 2003; Forbes & Grafman, 2010; Fuster, 2008; Miller & Cohen, 2001; Miller & Wallis, 2013)

En particular, la relación entre la regulación de la conducta social y la CPF se ha planteado a partir de múltiples estudios de lesión (S. W. Anderson, Bechara, Damasio, Tranel, & Damasio, 1999; Jenkins et al., 2014; Kolb, 1974; Milne & Grafman, 2001; Schneider & Koch, 2005; Y. Yang & Raine, 2009). En estos estudios, los pacientes con lesión unilateral de la COF del lado derecho se ven afectados en la conducta social, la toma de decisiones, el procesamiento emocional y la personalidad (Y. Yang & Raine, 2009), aquellos con lesión en la CPFVM tuvieron un pobre desempeño con respecto al grupo control, principalmente en la tarea de reconocimiento de emociones faciales, de igual modo que en la medición de la Teoría de la Mente (ToM), es decir el entendimiento de los pensamientos e intenciones de los demás. Por su parte, aquellos con lesión en la CPFDL también presentan un desempeño pobre en la medición de la ToM y la empatía (Jenkins et al., 2014). Además, individuos con lesión en la CPFVM exhibieron una reducción en la atribución implícita de estereotipos comparada con controles normales y aquellos con lesión en la CPFDL (Milne & Grafman, 2001). De igual manera, en Monos Rhesus, la lesión prefrontal ha mostrado producir aproximadamente cinco cambios interrelacionados en la conducta social, incluyendo reducción de la agresión y aislamiento social (Deets, Harlow, Singh, & Blomquist, 1970; Fuster, 2008). Por otro lado, ratas con lesión orbitofrontal mostraron mayor agresividad en pruebas de agresión macho-macho y agresión inducida por shock (Kolb, 1974) así como déficits en conductas sociales y de juego (Kolb, 1974; Uylings et al., 2003).

Por otra parte, Chad E. Forbes y Jordan Grafman en su revisión “*The Role of the Human Prefrontal Cortex in Social Cognition and Moral Judgment*” (2010) plantean inicialmente la visión clásica de la cognición social, la cual divide ésta en: **(a) procesos implícitos**, en los cuales se ha involucrado principalmente a la amígdala, ínsula, hipotálamo, corteza del cíngulo anterior (CCA) y la COF; y **(b) procesos explícitos**, en gran medida adjudicados a la CPF. Ante esta visión de la cognición social, que maneja como distintos y excluyentes un proceso del otro, así como las respectivas regiones del cerebro involucradas, los autores argumentan que a pesar de que estas regiones se ven generalmente involucradas en los procesos implícitos o explícitos, estas no lo están de manera exclusiva ya que interactúan

en todos los niveles de procesamiento. Por ejemplo, a pesar de que la amígdala y la CCA son reclutadas generalmente para el procesamiento de procesos cognitivos sociales implícitos como lo es la activación de estereotipos, denotan que múltiples estudios sugieren la importancia de la CPFDL para la regulación o supresión de estos. Lo anterior, debido al aumento de las demandas de procesamiento de esta región, específicamente a velocidades implícitas y explícitas de procesamiento, durante la tarea de activación negativa de estereotipos en presencia de señales contextuales que prioricen diferentes estados motivacionales o afectivos. Siendo esta clase de hallazgos indicadores de que las regiones involucradas en procesamientos implícitos y explícitos pueden interactuar a velocidades rápidas y lentas de procesamiento, y que las características de la situación pueden alterar el cómo las redes neuronales involucradas en la cognición social perciben y reaccionan a estímulos sociales.



**Figura 3: Conectividad entre regiones críticas para los procesos Implícitos y Explícitos de la cognición Social.** Las flechas bidireccionales solidas denotan una conectividad neuronal recíproca directa dentro de un sistema de procesamiento determinado, ya sea explícito o implícito. Las flechas discontinuas bidireccionales representan conectividad recíproca directa entre dos regiones que suelen participar en procesos implícitos o explícitos. Los círculos azules denotan regiones neuronales que normalmente están más involucrados en el procesamiento cognitivo implícito. Los círculos rojos denotan regiones neuronales que normalmente están más involucrados en el procesamiento cognitivo explícitos. Sin embargo, estas regiones no están involucradas exclusivamente en el procesamiento implícito o explícito, esta conjetura es representada por las tres cajas sombreadas y flecha grande a la derecha. El cuadro más claro representa regiones implicadas en gran medida en los procesos implícitos, representadas aquí por la amígdala en aras de la simplicidad. El cuadro gris oscuro resalta regiones ampliamente involucradas en procesos explícitos. El cuadro medio sombreado representa regiones reclutadas para ambos procesos. (Modificado de Forbes & Grafman, 2010)

De este modo, gracias a la flexibilidad dinámica en los circuitos involucrados tanto en los procesos explícitos como los implícitos, la CPF guía las conductas a través de la selección de estímulos relevantes, y supresión de aquellos que no lo son, lo cual es llevado a cabo sólo mediante la coordinación de los patrones de distribución de las fibras aferentes, la conectividad interna y el destino de las fibras eferentes.

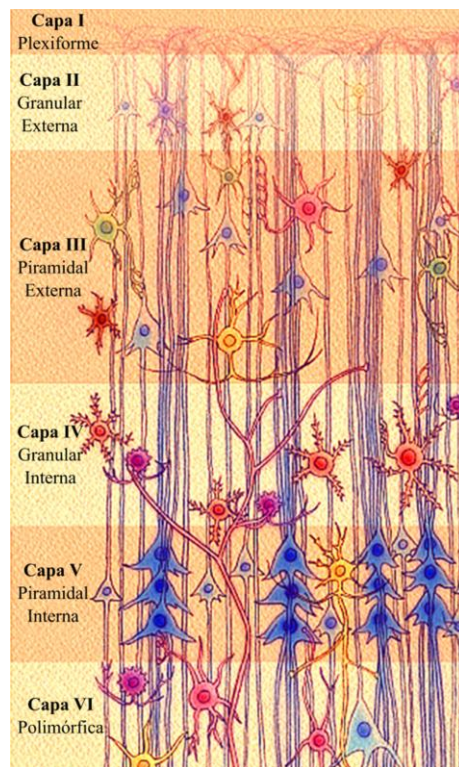
### 1.1.3 Arquitectura y composición celular

En la CPF existe una especificidad laminar en el tipo de células y proyecciones, siendo distribuidas en seis capas que para su estudio se organizan y numeran desde la superficie externa a la sustancia blanca (Fuster, 2008; Puig, Celada, & Artigas, 2004; Santana Ramos, 2007):

- **Capa I (molecular o plexiforme).** Está ocupada por algunas neuronas dispersas, principalmente gliales, y consiste principalmente de extensiones de dendritas apicales de las células localizadas más profundamente en la corteza y por axones que viajan a través de ésta capa o que forman conexiones en ella.
- **Capa II (granular externa).** Está compuesta principalmente por pequeñas células esféricas llamadas células granulares y contiene algunas células piramidales pequeñas que hacen conexión con otras áreas corticales del mismo hemisferio.
- **Capa III (piramidal externa).** De manera predominante contiene células piramidales pequeñas y medianas que establecen conexiones comisurales con el hemisferio opuesto así como con cortezas de asociación dentro del mismo hemisferio, siendo así la principal fuente de eferentes corticales (en cortezas de cinco capas la mayoría de las proyecciones talámicas son a ésta capa).
- **Capa IV (granular interna).** Del mismo modo que la capa II, se encuentra compuesta principalmente de células granulares, pero en este caso son principalmente interneuronas de circuito local (en cortezas de seis capas es la principal diana de la información sensorial que llega desde el tálamo).

- **Capa V (piramidal interna).** Contiene esencialmente células piramidales típicamente mayores que las de la capa III. Es la principal fuente de eferentes hacia gran número de zonas subcorticales.
- **Capa VI (polimórfica o multiforme).** Es una capa de neuronas bastante heterogénea. Se difumina dentro de la sustancia blanca que forma el límite inferior de la corteza y también es una capa de salida de la corteza. La mayoría de sus proyecciones son al tálamo

Además, las capas I-III contienen las dendritas apicales de neuronas que tienen sus somas en capas V y VI, mientras que estas últimas contienen las dendritas basales de neuronas situadas en capas III y IV.



*Figura 4: Representación Gráfica de las capas de la CPF*

Así, puede denotarse que la CPF se encuentra poblada principalmente por dos tipos neuronales, interneuronas, las cuales son principalmente GABAérgicas, representando el

15-25% de la población total y el control local inhibitorio; y, mayoritariamente, neuronas piramidales (75-80 % del total), las cuales son glutamatérgicas. En particular, las neuronas piramidales, morfológicamente están constituidas por un soma de aproximadamente 25-50  $\mu\text{m}$  de diámetro, un conjunto de dendritas basales distribuidas cerca del soma y una dendrita apical que proyecta hacia las capas superficiales, gracias a la cual tienen la capacidad de captar señales excitatorias e inhibitorias a distintos niveles corticales y, una vez integrada esta información, emitir un impulso eléctrico hacia las distintas áreas de proyección (Andrade, 2011; Puig et al., 2004; Santana Ramos, 2007).

#### **1.1.4 Modulación**

Como anteriormente se mencionó, el control local inhibitorio es mediado a través de células multipolares de circuito local (interneuronas) que secretan GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico), un aminoácido considerado el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC). El control inhibitorio juega un papel esencial en el sistema nervioso tanto previniendo que exista demasiada excitación como ayudando a coordinar la actividad entre las neuronas. Estas funciones son llevadas a cabo a través de dos receptores principales, GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub>. El receptor GABA<sub>A</sub> es un receptor ionotrópico que abre directamente un canal a  $\text{Cl}^-$ . El receptor GABA<sub>B</sub>, por otra parte, es un receptor metabotrópico, es decir, que activa una cascada de segundos mensajeros, la cual frecuentemente activa indirectamente un canal de  $\text{K}^+$  (Fuster, 2008; Kandel, Schwartz, Jessell, Siegelbaum, & Hudspeth, 2012).

Por otro lado, las señales excitatorias glutamatérgicas representan la inmensa mayoría de las sinapsis en el cerebro lo cual es patente dado el gran número de neuronas piramidales y la alta concentración del glutamato a través de todo el sistema nervioso, principalmente en la CPF. El glutamato deriva directamente de la transaminación del  $\alpha$ -acetoglutarato o de la glutamina que es sintetizada por las células gliales, por lo cual la interacción entre las células gliales y las neuronas excitatorias juega un papel importante en la disponibilidad y regulación del glutamato. Tras la despolarización de la terminal nerviosa que lo contiene, el

glutamato se libera en la hendidura sináptica en una forma dependiente de calcio, ejecutando su acción excitatoria a través de dos amplias categorías de receptores: los receptores ionotrópicos, los cuales activan directamente a canales iónicos y los metabotrópicos que se activan de manera indirecta ya que se acoplan con segundos mensajeros a través de un sistema de proteínas G. Existen tres principales subtipos de receptores a glutamato ionotrópicos: AMPA, Kainato y NMDA, nombrados de acuerdo a los agonistas sintéticos que los activan ( $\alpha$ -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazol-propionato, kainato y N-metil-D-aspartato, respectivamente). Los receptores de tipo AMPA y Kainato contienen un canal el cual es permeable a  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . El receptor tipo NMDA contiene un canal permeable a  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ , el cual además del sitio de unión para glutamato tiene sitios de unión para  $\text{Zn}^{2+}$ , glicina,  $\text{Mg}^{2+}$  y algunas poliaminas como la espermina y la espermidina, los cuales regulan el funcionamiento de éste canal de diversas maneras (Fuster, 2008; Kandel et al., 2012; Mori & Mishina, 1995; Vyklícky et al., 2014; Wollmuth & Sobolevsky, 2004).

Sin embargo, la diversidad y complejidad de las tareas llevadas a cabo por la CPF no se debe únicamente a señales excitatorias e inhibitorias, sino también a la alta sensibilidad que tiene a su estado neuroquímico, modulado por las entradas ascendentes de grupos colinérgicos y monoaminérgicos del mesencéfalo, incluyendo la acetilcolina (ACh), la serotonina (5-HT), la dopamina (DA) y la noradrenalina (NA), a través de terminales originadas en el prosencéfalo basal (BF), el rafe dorsal y medial (NR), el área tegmental ventral (VTA) y el *locus caeruleus* (LC), respectivamente (Bruin, Corner, Feenstra, Eden, & Uylings, 1991; Dembrow & Johnston, 2014; Fuster, 2008; Santana Ramos, 2007).

Dado el papel modulador de los anteriormente citados grupos colinérgicos y monoaminérgicos, es difícil atribuirles una función específica, sin embargo, se encuentran implicados en algunas funciones más que en otras, en virtud de su distribución en la CPF y de algunas restricciones relacionadas con el tipo celular, localización, concentración y conectividad. Por ejemplo, la acetilcolina ha sido implicada principalmente en procesos relacionados con la atención (Bloem, Poorthuis, & Mansvelder, 2014; Poorthuis et al.,

2013; Poorthuis & Mansvelder, 2013); la NE se ha vinculado con la memoria operativa, la concentración y el estrés, del mismo modo que la DA (Arnsten, 2009; Dash, Moore, Kobori, & Runyan, 2007; Rossetti & Carboni, 2005; Seamans & Yang, 2004; Z. Zhang, Cordeiro Matos, Jago, Adamantidis, & Séguéla, 2013), sin embargo, esta última también ha sido encontrada participe en la organización y ejecución de la conducta motora por parte de la CPF (Sawaguchi, Matsumura, & Kubota, 1986), la conducta dirigida a objetivos (Hollerman, Tremblay, & Schultz, 2000) y la motivación y recompensa (Schultz, Dayan, & Montague, 1997; Schultz, Tremblay, & Hollerman, 2000). Por otra parte, la serotonina se ha encontrado que desempeña un papel en el control de la cognición y la memoria (Clarke, Dalley, Crofts, Robbins, & Roberts, 2004; Clarke, Walker, Dalley, Robbins, & Roberts, 2007; Park et al., 1994), la flexibilidad (Clarke et al., 2005) y el control de impulsos (Dalley, Theobald, Eagle, Passetti, & Robbins, 2002; Rogers, Blackshaw, et al., 1999; Rogers, Owen, et al., 1999), además de estar implicado en procesos relacionados a la conducta social (Crockett, Clark, Hauser, & Robbins, 2010; Kiser, Steemers, Branchi, & Homberg, 2012; Moskowitz, Pinard, Zuroff, Annable, & Young, 2003).

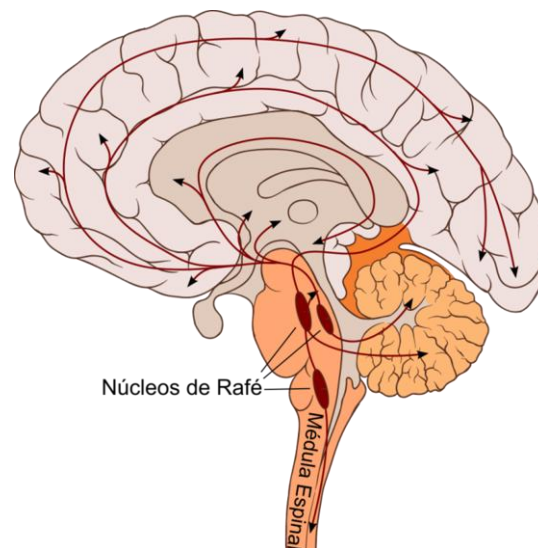
## **1.2 Serotonina**

### **1.2.1 Generalidades**

La serotonina, cuyo nombre químico es 5-hidroxitriptamina (5-HT), es una indolamina de amplia distribución en el cuerpo, principalmente los sistemas, gastrointestinal, respiratorio y cardiovascular (Fuster, 2008). El cerebro contiene solamente el 1-2%, sin embargo en éste la 5-HT es prácticamente ubicua, regulando desde el control motor (Carey, 2010) hasta la conducta sexual (Uphouse & Guptarak, 2010), incluyendo el humor (Hensler, 2010), la conducta social (Duman & Canli, 2010) y la impulsividad (Robbins & Crockett, 2010), entre otros (Cassel, 2010; M. D. Lee & Clifton, 2010; Lowry & Hale, 2010; McBride, 2010; Sommer, 2010). Sin embargo, la 5-HT no atraviesa la barrera hematoencefálica, por lo que el cerebro sintetiza la propia a partir del aminoácido triptófano gracias a la acción de dos enzimas: la triptófano hidroxilasa (TPH), que forma 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a

partir del triptófano y es responsable del paso limitante de la biosíntesis de la 5-HT; y la L-Aminoácido aromático descarboxilasa (5-hidroxitriptófano descarboxilasa, AAAD) que descarboxila el 5-HTP a 5-HT, reacción que sucede rápidamente a medida que el precursor inmediato se encuentra disponible. Tanto el triptófano como el 5-HTP son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (Brailowsky, 1995; Brunton, Lazo, & Parker, 2007; Fuster, 2008; Kandel et al., 2012).

Las neuronas serotoninérgicas se encuentran distribuidas cerca de la línea central del tallo cerebral a lo largo de toda su extensión rostro-caudal en nueve núcleos principales (B1 a B9) llamados Nucleos del Rafé (NR). Éstos núcleos se agrupan en rostrales y caudales, que a su vez se sub-dividen en núcleo caudal lineal (CLi), rafé dorsal (DR) y núcleo del rafé medial (MnR); y núcleo del rafé *magnus* (RMg), *obscurus* (ROb) y *pallidus* (RPa) respectivamente. A partir de estos núcleos nacen fibras que llegan a prácticamente todo el sistema nervioso (ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico, corteza cerebral, cerebelo y médula espinal), siendo los rostrales los que proyectan a prácticamente todo el cerebro, mientras que los caudales envían sus fibras hacia las áreas del tallo cerebral y la médula (Hornung, 2003, 2010).



**Figura 5: Sistema Serotoninérgico.** Representación gráfica de la distribución de las terminales serotoninérgicas (flechas) a partir de los núcleos del rafé (óvalos rojos) a través del SNC.

## **1.2.2 Receptores Serotoninérgicos**

Las terminaciones eferentes de los núcleos del raquí inervan a prácticamente todo el cerebro, donde la serotonina que liberan actúa a través de 13 distintos receptores, uno ionotrópico (5-HT<sub>3</sub>) y el resto metabotrópicos, los cuales pueden agruparse en función al tipo de proteína G a la que se acoplan. Los receptores asociados a G<sub>q/11</sub>, los miembros de la familia 5-HT<sub>2</sub> (5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>), relacionadas con la activación de la fosfolipasa C (PLC) y una tendencia a despolarizar la membrana celular y/o incrementar la excitabilidad del compartimento celular en que se encuentran. La Familia de receptores 5-HT<sub>1</sub> (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>) y el 5-HT<sub>5</sub> (tanto 5-HT<sub>5A</sub> como 5-HT<sub>5B</sub>) se encuentra acoplada a G<sub>i/o</sub> cuya activación lleva a la inhibición de la adenilato ciclasa y la subsecuente disminución del AMP cíclico (cAMP) que desemboca en una reducción de la actividad neuronal o la hiperpolarización de la membrana a través de canales HCN. Los receptores a 5-HT restantes (5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub>) se encuentran asociados a proteínas G<sub>s</sub> y modulan de manera positiva la adenilato ciclasa que usualmente resulta en un efecto excitatorio directo (Barnes & Sharp, 1999; Heine, Ponimaskin, Bickmeyer, & Richter, 2002; Marek, 2010; Mengod, Cortés, Vilaró, & Hoyer, 2010; Nichols & Nichols, 2008; Ponimaskin, Heine, Zeug, Voyno-Yasenetskaya, & Salonikidis, 2007).

## **1.3 Modulación serotoninérgica de la Corteza Prefrontal**

De entre los anteriormente citados receptores a serotonina, en la CPF se pueden encontrar principalmente a tres de ellos: el 5-HT<sub>3</sub>, el 5-HT<sub>1A</sub> y el 5-HT<sub>2A</sub>. El 5-HT<sub>3</sub>, se expresa fuertemente en las capas I – III, casi de manera exclusiva en interneuronas GABAérgicas y más específicamente en aquellas que expresan colecistoquinina o las proteínas de unión a calcio calbindina y calretinina. El receptor 5-HT<sub>1A</sub> cuya mayor expresión se da en las capas V y VI, tanto en interneuronas como en neuronas piramidales. Y el receptor 5-HT<sub>2A</sub>, el cual se expresa en interneuronas y neuronas piramidales principalmente de las capas III y V, y en menor medida en la capa VI. Principalmente en la capa V, pueden encontrarse dos poblaciones de interneuronas de disparo rápido que expresan parvalbúmina y receptores 5-HT<sub>1A</sub> o 5-HT<sub>2A</sub>, pero no ambos, en una proporción aproximada al 50%. En esta misma

capa, alrededor del 60% de las neuronas piramidales expresan a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> o 5-HT<sub>2A</sub>, coexpresando ambos receptores alrededor de un 80% de estas células (Celada, Puig, & Artigas, 2013; Leiser et al., 2015; Puig et al., 2004; Puig & Gullledge, 2011).

El efecto más claro de la serotonina en la CPF es una inhibición causada por la activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> y a su aparente papel dominante en la regulación de la excitabilidad de las neuronas piramidales de esta área. La inhibición causada por el receptor 5-HT<sub>1A</sub> se debe a un aumento en la conductancia de K<sup>+</sup> y la subsecuente hiperpolarización de la membrana neuronal, la cual es mediada por activación de canales Kir3.x secundaria a la liberación de la subunidad βγ de la proteína G a que se encuentra unido el receptor (Andrade, 2011; Celada et al., 2013; Puig, 2011; Puig et al., 2004; Puig & Gullledge, 2011). Además, el receptor 5-HT<sub>1A</sub> se encuentra también involucrado en la modulación de la neurotransmisión excitatoria glutamatérgica dado que su activación suprime la señal mediada por AMPA a través de la inhibición de CAMKII y reduce las corrientes mediadas por NMDA reduciendo la estabilidad de los microtubulos y el subsecuente tráfico de las subunidades del receptor NMDA a través de los microtubulos (Cai, Gu, Zhong, Ren, & Yan, 2002; Yuen et al., 2005; Zhong, Yuen, & Yan, 2008)

Por otro lado, la activación del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, reduce la conductancia a potasio en reposo induciendo una lenta despolarización de la membrana por un incremento del Ca<sup>2+</sup> intracelular (lo cual incrementa las corrientes postsinápticas excitatorias [EPSC's]). Sin embargo, la habilidad del receptor 5-HT<sub>2A</sub> para despolarizar las neuronas es limitada, y, normalmente, solo unos cuantos milivolts de despolarización son observados, no obstante, la activación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> puede aumentar la generación de potenciales de acción en respuesta a otras entradas excitatorias. Además de esto, uno de los mecanismos más importantes por el cual el receptor 5-HT<sub>2A</sub> incrementa la excitabilidad de las células piramidales parece estar mediada por la inhibición de la corriente de posthiperpolarización (IAHP) normalmente observada después de una ráfaga de picos. Como la posthiperpolarización (AHP) está implicada en la determinación de la excitabilidad neuronal, una inhibición de este tipo podría contribuir a regular la actividad de los patrones

de disparo de las neuronas corticales (Andrade, 2011; Celada et al., 2013; Puig, 2011; Puig et al., 2004; Puig & Gullledge, 2011).

La administración local en la corteza media prefrontal de DOI (2, 5-dimetoxi-4-yodo-anfetamina), un agonista parcial de los receptores 5-HT<sub>2A/C</sub>, provoca un aumento en la liberación de 5-HT debido a la activación de los circuitos CPF-NR, el cual se revierte por un antagonista AMPA/KA y se reproduce por la perfusión de AMPA. Dicho aumento de 5-HT producido por DOI también puede revertirse a través de la reducción de la transmisión glutamatérgica mediante la aplicación local de agonistas de los receptores metabotrópicos del glutamato (mGluR) de las familias II/III, que inhiben presinápticamente la liberación de glutamato y posinápticamente la actividad de las neuronas corticales. Asimismo, la liberación cortical de 5-HT también aumenta cuando se incrementan las concentraciones extracelulares de glutamato endógeno, ya sea bloqueando su recaptación o incrementando su liberación desde terminales talámicos tras la estimulación eléctrica del tálamo. Por otra parte, la activación del receptor 5-HT<sub>2A/C</sub> se opone a la habilidad del receptor 5-HT<sub>1A</sub> para despolimerizar los microtubulos, sugiriendo que la dinámica microtubular y el transporte de las subunidades del receptor NMDA por los microtubulos es regulada por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A/C</sub> de manera opuesta. Estos resultados indican que existe una importante interacción entre la activación de receptores 5-HT<sub>2A</sub> corticales y la transmisión glutamatérgica de la corteza media prefrontal (Martín-Ruiz et al., 2001; Puig et al., 2004; Yuen, Jiang, Chen, Feng, & Yan, 2008; Zhong et al., 2008).

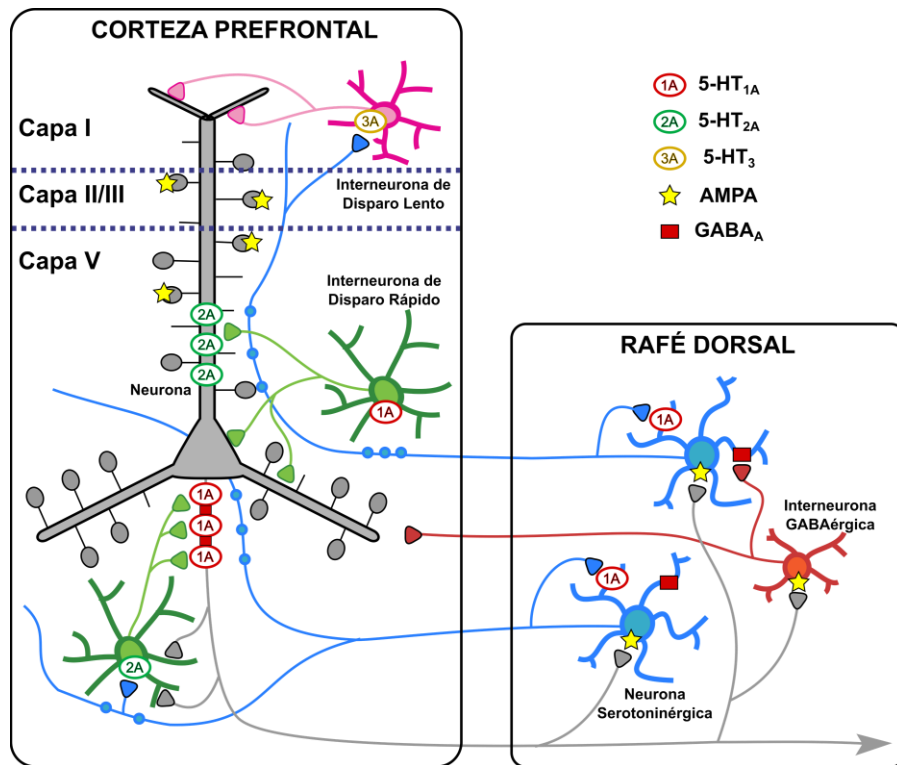
Sin embargo, estudios in vitro indican que la activación de los receptores corticales 5-HT<sub>2A</sub> inducen efectos opuestos en las neuronas piramidales, y se registran tanto despolarizaciones como hiperpolarizaciones; estas últimas mediadas, muy probablemente, por la activación de receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados en interneuronas GABAérgicas de disparo rápido, que al activarse provocan corrientes postsinápticas inhibitorias (IPSC's). No obstante, la estimulación eléctrica de los NR, ejerce una potente supresión predominante de la actividad de las interneuronas de disparo rápido, similar a la observada en neuronas piramidales, la cual es mediada por el receptor 5-HT<sub>1A</sub> (Andrade, 2011; Celada et al., 2013; Leiser et al.,

2015; Puig, 2011; Puig et al., 2004; Puig & Gullledge, 2011).

En el caso de las interneuronas de disparo lento, éstas posiblemente modulan la actividad piramidal a través de sus contactos con las dendritas apicales, lo cual, debido a la localización característica de los receptores 5-HT<sub>3</sub> (en un gradiente descendente desde la capa I a VI) se sugiere que son la diana del denso plexo de terminales serotoninérgicos que llegan a las capas superficiales de la corteza. Además, tanto en registros de neuronas gabérgicas corticales como, se ha descrito la presencia de corrientes excitadoras entrantes de sodio y potasio de elevada amplitud y desensibilización rápida concordantes con una corriente producida por un canal iónico

Finalmente, tanto por medio de estudios inmunohistoquímicos como electrofisiológicos, se ha demostrado la coexpresión de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> en las neuronas piramidales de la CPF (Amargós-Bosch et al., 2004; Wedzony, Chocyk, & Maćkowiak, 2008), sin embargo, la función de ésta coexpresión aún no ha sido dilucidada. Dado que la mayor expresión del receptor 5-HT<sub>2A</sub> reside en la dendrita apical (Cornea-Hébert, Riad, Wu, Singh, & Descarries, 1999; Jakab & Goldman-Rakic, 1998) mientras que la expresión del receptor 5-HT<sub>1A</sub> es somatodendrítica con un marcado énfasis en el cono axonal (Azmitia, Gannon, Kheck, & Whitaker-Azmitia, 1996; DeFelipe, Arellano, Gómez, Azmitia, & Muñoz, 2001; Pompeiano, Palacios, & Mengod, 1992; Riad et al., 2000), se ha sugerido que los axones serotoninérgicos sean capaces de establecer contactos axo-axonicos con las neuronas piramidales, similar a aquellas establecidas por las interneuronas GABAérgicas de candelabro, lo que podría tener un fuerte impacto en la generación de los potenciales de acción. De este modo, los axones serotoninérgicos próximos a las dendritas apicales podrían modular las entradas glutamatérgicas en las neuronas piramidales, mientras aquellos próximos a los conos axonales controlarían la probabilidad de producir un impulso nervioso a través de la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Celada et al., 2013). Ésta teoría sugiere la existencia de distintas poblaciones de neuronas 5-HT en los NR, cuyos axones pasarían cerca de la dendrita apical o el cono axonal, y generarían respuestas opuestas en la misma neurona. De hecho, se ha descrito la existencia de dos

plexos muy densos de axones serotoninérgicos en las capas I y Va de la corteza somatosensorial, entre ambos, los axones serotoninérgicos se disponen verticalmente, paralelos a las dendritas apicales enriquecidas en receptores 5-HT<sub>2A</sub>. A su vez, se ha descrito la existencia de axones serotoninérgicos que pasan horizontalmente cerca del cono axonal de neuronas piramidales, áreas ricas en receptores 5-HT<sub>1A</sub> y GABA<sub>A</sub> (Puig et al., 2004). Otra posibilidad que se sugiere es la de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> regulen de manera cooperativa la manera en que las neuronas piramidales codifiquen las entradas excitatorias en disparos de potenciales de acción, específicamente modulando el receptor 5-HT<sub>2A</sub> la ganancia eléctrica de la neurona por medio del control de la posthiperpolarización, mientras el receptor 5-HT<sub>1A</sub> controla el rango de intensidad de las entradas sobre las cuales la célula codificara las entradas excitatorias en actividad de disparo a través de la regulación del potencial de membrana de la célula (Andrade, 2011).



**Figura 6: Regulación Serotoninérgica de la CPF.** Las neuronas piramidales de la corteza prefrontal proyectan densamente al rafe dorsal y medial, modulando la actividad de las neuronas serotoninérgicas directa e indirectamente. A su vez, la 5-HT endógena modula la actividad de las neuronas piramidales a través de la activación de diferentes receptores, de entre los cuales los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> juegan el papel principal. (Modificado de Celada et al., 2013).

## **1.4 Serotonina durante el neurodesarrollo**

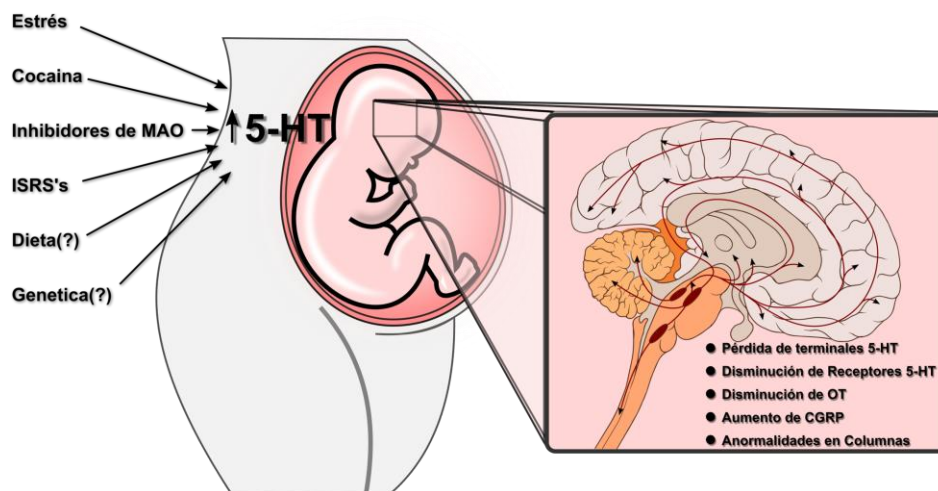
Por otra parte, previo a su papel como neurotransmisor, la serotonina ejerce un importante papel durante el neurodesarrollo, inicialmente actuando de manera autoregulatoria, influenciando el desarrollo de las neuronas serotoninérgicas, y conforme el desarrollo continúa, la serotonina actúa en todas las fases subsecuentes: neurogénesis/neuroprotección, gliogénesis, migración celular y finalmente en la diferenciación y maduración (Patricia M. Whitaker-Azmitia, 2010). Dado esto, a pesar de que la supresión de receptores a 5-HT, o los genes involucrados en el metabolismo de ésta, no produce anomalías graves en el desarrollo del cerebro (Gaspar, Cases, & Maroteaux, 2003), la pérdida o ganancia de las funciones de ciertos receptores a 5-HT en periodos críticos del desarrollo produce cambios particulares en la formación de conexiones neurales. Ejemplo de esto, es la reducción de la organización intercolumnar de las proyecciones axonales (Miceli et al., 2013), anomalías en la organización laminar y columnar de la corteza cerebral (Janusonis, Gluncic, & Rakic, 2004) y una disminución de las agrupaciones tipo barril de roedores (Cases et al., 1996), además de múltiples cambios en la conducta (Gaspar et al., 2003; Insel & Winslow, 1998; Kahne et al., 2002; McNamara, Borella, Bialowas, & Whitaker-Azmitia, 2008; Oberlander, 2012; Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005).

Debido a lo anterior, es predecible la temprana expresión del sistema serotoninérgico en el cerebro humano, siendo evidentes las neuronas serotoninérgicas en el tronco cerebral desde la semana 5 de gestación en humanos y el día 11 de gestación en roedores (Oca, Gutiérrez, & Rodríguez, 2013; Patricia M. Whitaker-Azmitia, 2010). Sin embargo, no se han detectado sitios de biosíntesis temprana de serotonina en estructuras embrionarias o extraembrionarias, lo cual sugiere el origen materno como la principal fuente de serotonina (Côté et al., 2007).

## **1.5 Modelo de hiperserotoninemia durante el desarrollo (DHS)**

La Doctora Patricia M. Whitaker-Azmitia, por medio de su modelo animal de hiperserotoninemia durante el desarrollo (DHS) aborda la teoría de la madre como fuente

de la serotonina en etapas tempranas de la gestación, aunando el antecedente de que, en esta misma etapa temprana, no se encuentra completamente formada la barrera hematoencefálica, lo cual permitiría a la serotonina entrar al cerebro del feto en desarrollo y causar una pérdida de terminales serotoninérgicas (Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005). Dicha pérdida siendo postulada a través de una retroalimentación negativa mediada principalmente por el receptor 5-HT<sub>1A</sub> (Oca et al., 2013; Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005; Patricia M. Whitaker-Azmitia, 2010). Para el desarrollo de éste modelo, con base a trabajos previos (A. V. Shemer, Azmitia, & Whitaker-Azmitia, 1991; A. Shemer, Whitaker-Azmitia, & Azmitia, 1988; P. M. Whitaker-Azmitia & Azmitia, 1986; P. M. Whitaker-Azmitia, Lauder, Shemmer, & Azmitia, 1987), la doctora Whitaker-Azmitia administra a las madres gestantes 1 mg por kilogramo de peso de 5-Metoxitriptamina (5-MT), un agonista serotoninérgico, desde la fecha en que son identificables las primeras neuronas serotoninérgicas (día gestacional 12) hasta el nacimiento de las crías y una dosis igual a las crías desde la fecha de su nacimiento hasta el día postnatal 20, un día antes del destete (Kahne et al., 2002).



**Figura 7: Base Teórica del Modelo DHS.** Distintos factores como el estrés, la cocaína y algunos fármacos pueden aumentar la concentración de serotonina materna, lo cual, debido a que la barrera hematoencefálica del feto se encuentra inmadura, es capaz de provocar diversas alteraciones en el neurodesarrollo del feto, la concentración de algunos péptidos y posteriormente cambios en su conducta.

De tal modo, bajo el tratamiento anteriormente descrito, las crías desarrollan una serie de anomalías sociales, conductuales y en péptidos, entre las que se puede destacar un incremento a nivel de amígdala del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y una disminución en la oxitocina (OT) en el núcleo paraventricular del hipotálamo (Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005). De igual modo, se ha descrito hipersensibilidad a estímulos auditivos o táctiles, disminución de la alternación en la prueba de alternación espontánea y disminución en las vocalizaciones inducidas por separación de las madres al ser removidas éstas (Kahne et al., 2002). Así como presentar una menor interacción social basada en el olfato, pasar menor tiempo con la madre durante la fase activa y tener un menor apego a la madre en la prueba de regreso a la madre (McNamara et al., 2008).

Cabe resaltar, que dada la similitud entre las alteraciones presentes en el modelo DHS y aquellas presentadas en el Autismo, además de la fuerte participación del sistema serotoninérgico en origen de las alteraciones, se ha postulado éste como modelo para dicho trastorno del desarrollo (Kahne et al., 2002). La hipótesis de relacionar un trastorno en los niveles de serotonina con el Autismo surge debido a que la presencia de hiperserotoninemia en los pacientes con dicho trastorno es considerado el dato más ampliamente replicado desde que lo reportaran Schain RJ y Freedman DX (1961), presentándose en aproximadamente una tercera parte de los pacientes (G. M. Anderson et al., 1987; Mulder, 2006). No obstante, aunque importante la teoría serotoninérgica, la genética juega un papel primordial en la etiología del autismo, como demostraron inicialmente Folstein y Rutter en sus estudios gemelares (Folstein & Rutter, 1977), el cuál fue seguido por múltiples hallazgos que suman a la fecha más de 100 genes relacionados con dicho trastorno (De Rubeis et al., 2014; Sanders et al., 2012). Además, otras alteraciones, como la disminución de Oxitocina, han sido postuladas (J. J. Green & Hollander, 2010; L. Green et al., 2001; LoParo & Waldman, 2015; Modahl et al., 1998), esto debido a la influencia de dicha hormona en la regulación de la conducta social y a que la administración de esta hormona ha demostrado reducir síntomas del autismo como las conductas repetitivas (Hollander et al., 2003) y el bajo aprendizaje social (Gordon et al., 2013).

## 2 Justificación

La corteza prefrontal (CPF) se ha relacionado fuertemente con conductas complejas como la flexibilidad, la inhibición y la interacción social, mismas que se ven afectados ante una alteración en el sistema serotoninérgico (Gaspar et al., 2003; Kahne et al., 2002), lo cual denota la particular importancia de dicho sistema en el correcto funcionamiento de la CPF.

La serotonina ejerce un papel modulador de la excitabilidad de las neuronas piramidales de la CPF principalmente a través de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub>, cuya activación provoca respuestas antagónicas entre ellas (Cai et al., 2002; Martín-Ruiz et al., 2001; Yuen et al., 2005, 2008; Zhong et al., 2008). Sin embargo, previo a su papel como neurotransmisor, la serotonina ejerce un importante papel autoregulatorio durante el neurodesarrollo, ejerciendo una reducción en el crecimiento de las terminales serotoninérgicas y el número de receptores ante un incremento en la concentración de serotonina (P. M. Whitaker-Azmitia & Azmitia, 1986; P. M. Whitaker-Azmitia et al., 1987). Lo anterior, deriva en anomalías en la organización laminar, columnar e intercolumnar de la corteza cerebral (Janusonis et al., 2004; Miceli et al., 2013), así como cambios en la conducta (Kahne et al., 2002; Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005). Dado esto, es posible conjeturar que ésta misma autoregulación del sistema serotoninérgico durante el desarrollo sea capaz de generar cambios en la modulación de la neurotransmisión excitatoria glutamatérgica.

De esta manera, el estudio de la influencia que ejerce una hiperserotoninemia en las madres gestantes sobre la conducta y modulación serotoninérgica de áreas como la CPF en las crías, nos ayudará a comprender de mejor manera, tanto los procesos subyacentes en la regulación de la excitabilidad de las neuronas piramidales de esta área, como la repercusión de los cambios en la química interna de las madres durante la gestación sobre el desarrollo de las crías, lo cual puede tener trascendencia en trastornos del desarrollo como el autismo que ha sido fuertemente relacionado con alteraciones en el sistema serotoninérgico.

### **3 Hipótesis**

Una hiperserotoninemia materna durante el desarrollo produce cambios conductuales y neuromodulatorios mediados por serotonina sobre las corrientes activadas por glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de corteza prefrontal de las crías.

## 4 Objetivos

### 4.1 General

Estudiar los cambios producidos por una hiperserotoninemia materna en la respuesta moduladora de serotonina sobre las corrientes de Glutamato de neuronas piramidales de la capa 5 y 6 de corteza prefrontal de rata.

### 4.2 Particulares

1. Desarrollar el modelo de Hiperserotoninemia materna por administración s.c. de 5-MT en rata.
2. Evaluar conductualmente a los críos de ratas tratadas con hiperserotoninemia materna.

Pruebas conductuales:

- Interacción Social
  - Regreso a la madre
3. Inducir corrientes iónicas activadas por Glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de la capa 5-6 de corteza prefrontal de rata.
    - Caracterizar pico, estado estacionario, relación EE/P y constante de tiempo de desensibilización ( $\tau$ ).
    - Constante de tiempo de recuperación ( $\tau_{rec}$ ).
  4. Evaluar el efecto modulador de la Serotonina sobre las corrientes iónicas activadas por Glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de la capa 5-6 de corteza prefrontal de rata.
    - Caracterizar pico, estado estacionario, relación EE/P y constante de tiempo de desensibilización ( $\tau$ ).
    - Constante de tiempo de recuperación ( $\tau_{rec}$ ).
    - Efecto modulador de la Serotonina sobre la corriente.

## **5 Metodología**

Todos los procedimientos fueron llevados a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). La creación del modelo se realizó en ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley con diagnóstico de segundo parto, procedentes del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Posteriormente, los experimentos se realizaron en las crías macho resultantes.

### **5.1 Modelo de hiperserotoninemia del desarrollo (DHS)**

El protocolo de obtención del modelo de hiperserotoninemia del desarrollo descrito inicialmente por Patricia M Whitaker-Azmitia (A. V. Shemer et al., 1991; Patricia M Whitaker-Azmitia, 2005; McNamara et al., 2008) y más tarde replicado (Cannizzaro et al., 2007; Martin et al., 2012), Se describe a continuación con algunas modificaciones.

#### **5.1.1 Elección de la droga**

Se eligió la 5-metoxitriptamina (5-MT) por su relativamente alta potencia en todos los receptores a serotonina probados, aproximadamente 1/10 la potencia de la serotonina. La adición de un grupo metoxi, en lugar del hidroxilo de la serotonina, hace que la molécula sea más estable en solución a pH neutro y reduce la sensibilidad a la luz. A pesar de que es metabolizada por tanto por la monoaminooxidasas A como la B, es un sustrato relativamente más pobre que la serotonina, por lo cual se puede esperar que la vida media de la inyección sea un poco más largo.

#### **5.1.2 Dosis**

La dosis usada en este modelo no causa ningún signo del síndrome serotoninérgico clásico en los animales, pero en los días finales de inyección a las madres se puede encontrar un poco de edema en las patas. La bibliografía ha citado esta dosis y ha encontrado efectos

significativos en el desarrollo de las terminales serotoninérgicas(Lauder, Liu, & Grayson, 2000; A. V. Shemer et al., 1991; P. M. Whitaker-Azmitia et al., 1987). Se ha reportado generalmente que la hiperserotoninemia del autismo es de un 50% de incremento en los niveles de serotonina en suero, o alrededor de 100ng/ml de suero. Asumiendo una distribución en el agua total del cuerpo, y su relativamente baja potencia comparada con la serotonina, los niveles de 5-MT de la rata deben entonces aproximar a los cambios observados en el autismo.

### **5.1.3 Inyección**

Para crear el modelo de hiperserotoninemia del desarrollo (DHS), comenzando en el día gestacional (GD) 11 (un día antes del momento en que las neuronas serotoninérgicas son identificadas) (Patricia M. Whitaker-Azmitia, 2010) y hasta el parto, cuatro hembras preñadas fueron inyectadas de manera subcutánea con el agonista no específico de la serotonina 5-MT (SIGMA-Aldrich Company) a una dosis de (1.0 mg/Kg) que se aproxima a replicar el 50% de incremento de serotonina en sangre de los pacientes autistas y se ha encontrado que inhibe el crecimiento de las terminales serotoninérgicas produciendo un déficit de comportamiento(A. V. Shemer et al., 1991). Un segundo grupo de cuatro hembras se inyectaron de manera similar con un volumen equivalente de solución salina a modo de descartar la influencia de la inyección por sí misma en los subsecuentes análisis. Por último, un grupo más de cuatro hembras fueron inyectadas siguiendo el modelo original del modelo DHS, es decir, del GD 11 al día de parto con 5-MT a una dosis de 1.0 mg/Kg y más tarde a las crías desde el día post-natal 0 (PND 0), el día de nacimiento, hasta el día antes del destete (PND 21) con la misma dosis (1.0 mg/Kg).

Todas las inyecciones se realizaron a una misma hora y siguiendo una metodología de doble ciego.

Los efectos del agonista se confirmaron conductualmente de acuerdo al modelo propuesto de hiperserotoninemia durante el desarrollo y los efectos compatibles con la ya publicado.

## **5.2 Pruebas de comportamiento**

Todas las pruebas se realizaron en el horario de 6 - 9 pm durante la primera mitad de la fase nocturna de las ratas. Los comportamientos que tienen lugar en la caja de origen se probaron en una caja de 470 mm x 290 mm x 190 mm de acrílico; los comportamientos que utilizan un “campo abierto” fueron probados en un equipo de 60cm x 60cm de madera. El día previo a las pruebas en “campo abierto” los animales se manipularon y habituaron de manera individual al “campo abierto” durante 10 minutos.

### **5.2.1 Regreso a la madre**

En el día post-natal 17 (PND 17), la camada se colocó individualmente en una caja con un muro opaco situado a la mitad del lado más largo. La madre se situó en un lado y las crías en el lado opuesto del muro. El muro cuenta con un orificio de 2.5 cm por 2.5 cm a nivel del suelo, a través del cual pueden pasar la cría pero no la madre. Se le dio a las crías un total de 10 minutos (600s) para cruzar de regreso con la madre. Se definió como “regreso a la madre” cuando las patas traseras de la cría hubiesen cruzado a la apertura hacia el lado en que se encuentra la madre (Blažević, Dolenc, & Hranilović, 2011; McNamara et al., 2008).

### **5.2.2 Interacción Social**

En el día post-natal 35 (PND 35), las ratas fueron removidas de manera individual de su caja de origen y colocadas en un “campo abierto” por pares de mismo sexo pero completamente desconocidos el uno para el otro, siendo colocados en esquinas opuestas. Las ratas fueron alternadas a modo de que nunca se ocupó la misma para pruebas seguidas. El número total y duración de olfateos ano-genitales, olfateo del cuerpo, monta no olfatoria (definida por tener al menos dos de las patas en la rata extraña sin movimiento de los bigotes o la nariz), comportamientos de aseo y juego fueron grabados. Entre cada prueba, el campo abierto se limpió con alcohol al 70%, agua destilada y dejado secar (Bolivar, Walters, & Phoenix, 2007; P. R. Lee, Brady, Shapiro, Dorsa, & Koenig, 2005; Silverman, Yang, Lord, & Crawley, 2010; M. Yang, Clarke, & Crawley, 2009).

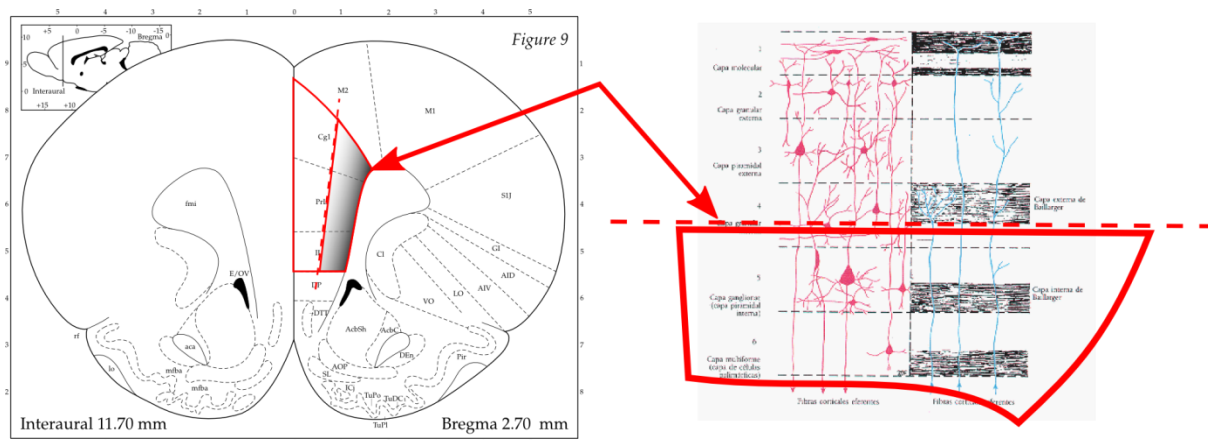
Las modificaciones realizadas al protocolo de obtención del modelo de hiperserotoninemia fueron: se comenzó la administración un día antes del momento en que las neuronas serotoninérgicas son identificadas, en vez de en el mismo día; y se eliminó la serie de inyecciones realizadas a la cría desde el día post-natal 0 (PND 0), el día de nacimiento, hasta el día antes del destete (PND 20) debido a que éste estudio se enfoca específicamente en los cambios en el sistema serotoninérgico que puedan ser producidos por una hiperserotoninemia materna.

### **5.3 Disociación Aguda**

El protocolo de disociación empleado ya ha sido previamente descrito por (Bargas, Howe, Eberwine, Cao, & Surmeier, 1994; Surmeier, Song, & Yan, 1996; Flores-Hernández et al., 2000, 2002) el cual se describe a continuación con algunas modificaciones:

Las ratas son anestesiadas con halotano y decapitadas, los cerebros se disecan rápidamente y se colocaron en solución fría de isetionato con bajo calcio (en mM): 140 isetionato de sodio, 2 KCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 0.1 CaCl<sub>2</sub>, 23 glucosa, 15 HEPES, pH = 7.4, 300-310 mOsm/L y suplementada con (en mM): 1 ácido pirúvico, 0.005 glutatión, 0.1 NG-nitro-L-arginina, 1 ácido kinurénico, y gaseada con O<sub>2</sub>. Posteriormente se obtiene rebanadas sagitales de 350 µm con ayuda de un vibratomo (Campden) mientras están sumergidas en la misma solución. De las rebanadas obtenidas, se diseccionan las capas V-VI de la corteza prefrontal tal como se muestra en la **Figura 8**.

Posteriormente las rebanadas disecada se mantienen entre 45 a 90 minutos a temperatura de 30° C en una solución salina balanceada de Earle (EBSS, SIGMA) amortiguada con bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) suplementada con (en mM): 1 ácido pirúvico, 0.005 glutatión, 0.1 N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina, 1 ácido kinurénico; burbujeada con 95% O<sub>2</sub>/ 5% CO<sub>2</sub>, pH = 7.4 ajustado con NaOH, 300-310 mOsm/L.



**Figura 8:** Corte sagital de cerebro de rata (Paxinos & Watson, 1998) donde se resalta el área correspondiente a la corteza prefrontal señalando el lugar donde se hará el corte para la obtención de las capas V y VI.

Después de al menos 45 minutos de incubación se toma una rebanada de corteza prefrontal para su tratamiento enzimático, el cual se realiza en una cámara de cultivo de 40 ml con solución salina balanceada de Hanks (HBSS, SIGMA) amortiguada con HEPES burbujeada con O<sub>2</sub>, conteniendo 0.5 mg/ml de papaína (Calbiochem) a 33°C ± 1, durante 10 minutos y suplementada con (en mM): 1 ácido pirúvico, 0.005 glutatión, 0.1 N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina, 1 ácido kinurénico.

Transcurrido el tiempo de la digestión enzimática, el tejido es lavado con la solución de isetionato y posteriormente dissociado mecánicamente con pipetas Pasteur de diferentes calibres (pulidas al fuego). La suspensión de células se siembra en cajas Petri de 35 mm (Nunc Surface, NUNC) montadas en el microscopio de registro. Después de 10 minutos de incubación la suspensión es lavada con una solución de fondo (en mM): 140 NaCl, 23 Glucosa, 15 HEPES, 2 KCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 1 CaCl<sub>2</sub> y 1% rojo fenol, burbujeada con O<sub>2</sub>, pH = 7.4 ajustado con NaOH, 300-310 mOsm/L; para su posterior registro por medio de la técnica de fijación de voltaje.

Las modificaciones realizadas al protocolo de disociación fueron: los cortes cerebrales son sagitales y no coronales, también hubo cambios en el tratamiento enzimático, se realizaron

pruebas en cuanto al tiempo, cantidad y tipo de enzima, obteniendo que la papaína a una concentración de 0.5 mg/ml durante 10 min., a  $33^{\circ}\text{C} \pm 1$ , presenta menor daño en la estructura celular.

Estas pruebas se realizaron de forma cualitativa y permitieron la obtención de células disociadas de mejor viabilidad.

#### ***5.4 Técnica célula completa en protocolos de fijación de voltaje (Whole-cell recordings).***

Se emplea la técnica de célula completa con fijación de voltaje (Bargas et al., 1994). Los electrodos de registro serán estirados de tubos capilares de borosilicato tipo Corning 8250 (WPI 1B120F4, Sarasota FL) utilizando un Micropipette Puller Modelo p-97, (Sutter Instrument Co).

La solución interna para registro de corrientes de Glutamato se encuentra compuesta de (en mM): 175 N-metil-D-glutamina (NMDG), 40 HEPES, 2  $\text{MgCl}_2$ , 10 ácido etilen glicol-bis ( $\beta$ -aminoetil éter) -N, N, N', N'-tetraacético (EGTA), 12 fosfocreatina, 3  $\text{Na}_2\text{ATP}$ , 0.35  $\text{Na}_3\text{GTP}$ , 0.1 leupeptina, pH = 7.3 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 265 – 270 mOsm/L.

La solución externa compuesta de (en mM): 127 NaCl, 20 CsCl, 5  $\text{BaCl}_2$ , 2  $\text{CaCl}_2$ , 12 glucosa, 10 HEPES, pH = 7.3 con NaOH, 300-305 mOsm/L.

Los registros se obtuvieron con un amplificador para fijación de voltaje “voltage clamp” Axopatch 1-D (Axon Instruments, Foster City, CA) y controlado con el programa pClamp Versión 10 (Axon Instruments, Foster City, CA) ejecutándose en una computadora tipo Pentium con una interfase tipo Digidata 1322A (Axon Instruments, Foster City, CA).

La resistencia de los electrodos es típicamente de 6-10 M $\Omega$  en el baño. Después de la ruptura del sello, la resistencia serial es menor a 25 M $\Omega$ . Cuando el cambio de la resistencia serial es mayor al 50% el experimento es suspendido. El potencial de membrana se mantiene en -80mV mientras no hay protocolo activo.

Para su registro, se disecciona la capa V-VI, como anteriormente se mencionó, eligiéndose para su registro las neuronas piramidales de mayor capacitancia, la menor longitud y número de dendritas, y que mantuviera sus características morfológicas (forma de pirámide o pera y dendrita apical visible).

### **5.5 Aplicación de fármacos**

Para inducir la corriente activada por ligando, este es aplicado a través de un sistema de dos capilares con un ángulo de 45° entre ellos y una distancia de 200 a 600  $\mu\text{m}$  de la célula a registrar. Un capilar lleva la solución externa (control) y el otro lleva esta misma más el ligando a utilizar. El intercambio de solución se realizó por la apertura de válvulas solenoides 98302-00 (Cole-Parmer) comandadas por la salida digital del sistema Digidata 1322A, y un aparato de control fabricado en el laboratorio.

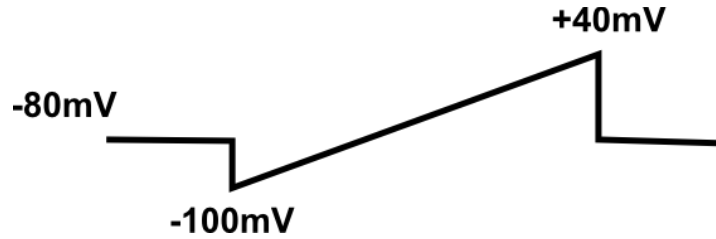
La célula es bañada por la solución del primer capilar con la solución externa o control, después del cambio, la célula se baña por la solución del segundo capilar conteniendo el ligando a probar durante 2s a 6s, según el protocolo empleado para posteriormente regresar a la solución control. El tiempo en que el electrodo detecta el cambio de las condiciones iónicas entre una solución y otra es de 6ms.

Las fármacos son preparados como soluciones concentradas en agua desionizada de al menos 1000 veces la concentración final a utilizar. Los ligandos utilizados son Glutamato 100  $\mu\text{M}$  y Serotonina 40  $\mu\text{M}$  (SIGMA-Aldrich Company).

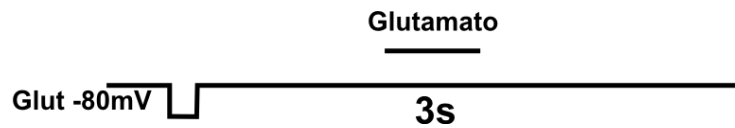
## 5.6 Protocolos electrofisiológicos.

Los protocolos empleados para el registro electrofisiológico serán:

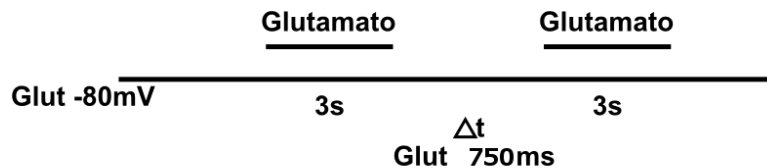
**Rampa** (-100 mV a +40 mV) con una duración de 200 ms para generar las corrientes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ .



**Aplicación de Glutamato**, el potencial de mantenimiento es de -80 mV durante 6s de los cuales 3s son para la aplicación de Glutamato.



**Recuperación Glutamato.** Se determina la constante de tiempo ( $\tau$ ) en que la corriente activada por Glutamato puede ser recuperada al 100 % después de una aplicación inicial. El periodo de tiempo entre aplicaciones del agonista es de 40s. Y el periodo de tiempo entre la aplicación primera y segunda aplicación se va incrementando con un delta de tiempo de 750 ms. El potencial de mantenimiento es de -80 mV.



## **5.7 Análisis estadístico.**

Los valores en tablas, gráficas o texto, representan el valor de la media de los resultados obtenidos  $\pm$  su error estándar de la media (ESM). Los ajustes y gráficas son realizados en el programa Origin 10 (Microcal Software Inc., Northampton, MA). En el análisis estadístico, los datos fueron analizados primero con una prueba Shapiro ( $p < 0.05$ ) para determinar el comportamiento de una distribución normal. Las diferencias entre las medias de grupos experimentales son analizadas mediante una ANOVA de una vía con una postprueba de Bonferroni,  $p < 0.05$ . En datos que no mostraron una distribución normal se empleó la ANOVA de Kruskal-Wallis.

Para el análisis de la constante de tiempo de recuperación de la corriente activada por Glutamato, se empleó un ajuste logístico de exponencial de decaimiento con el programa de Origin.10 La fórmula que se utilizará para este ajuste es la siguiente:

$$y = A_1 * \exp \frac{-T}{\tau}$$

Dónde:

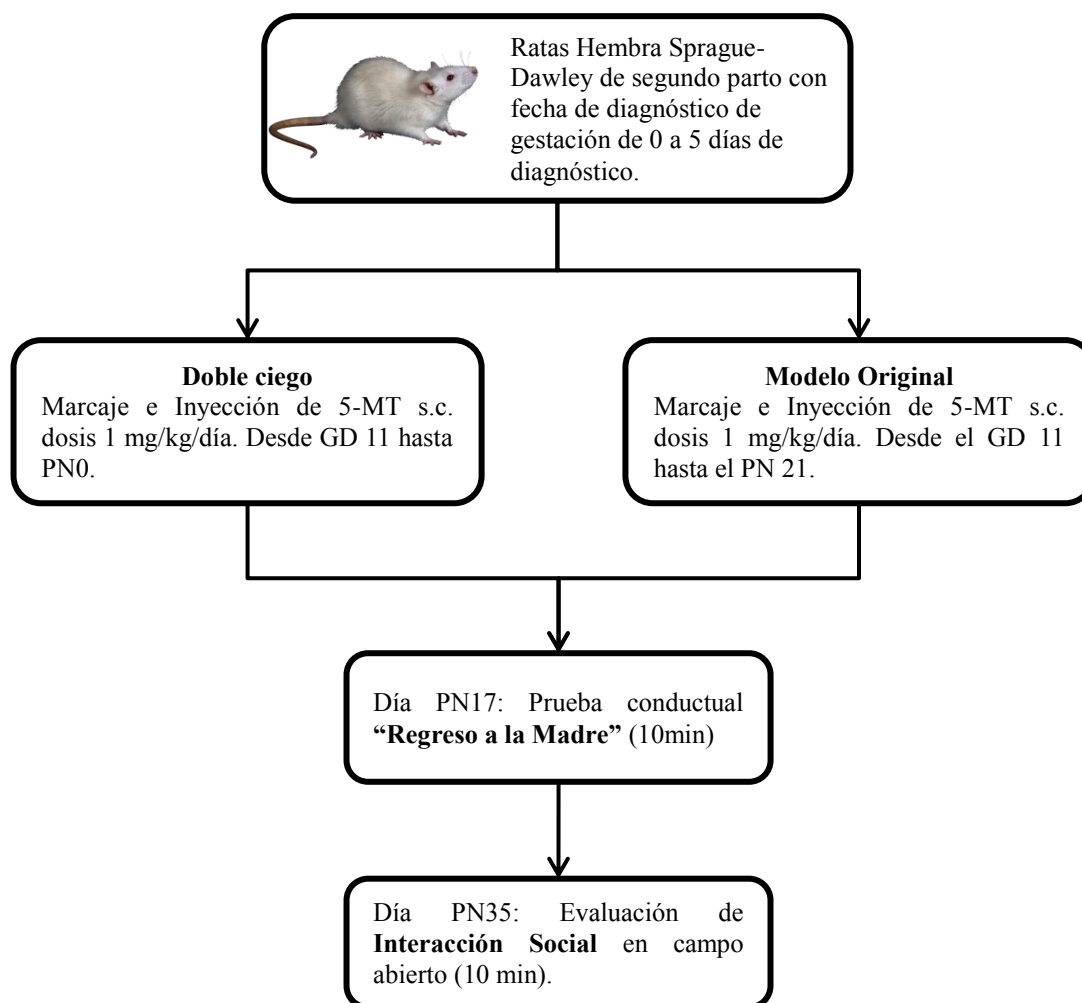
$A_1$  = 100 % de la respuesta

T = Valor del tiempo

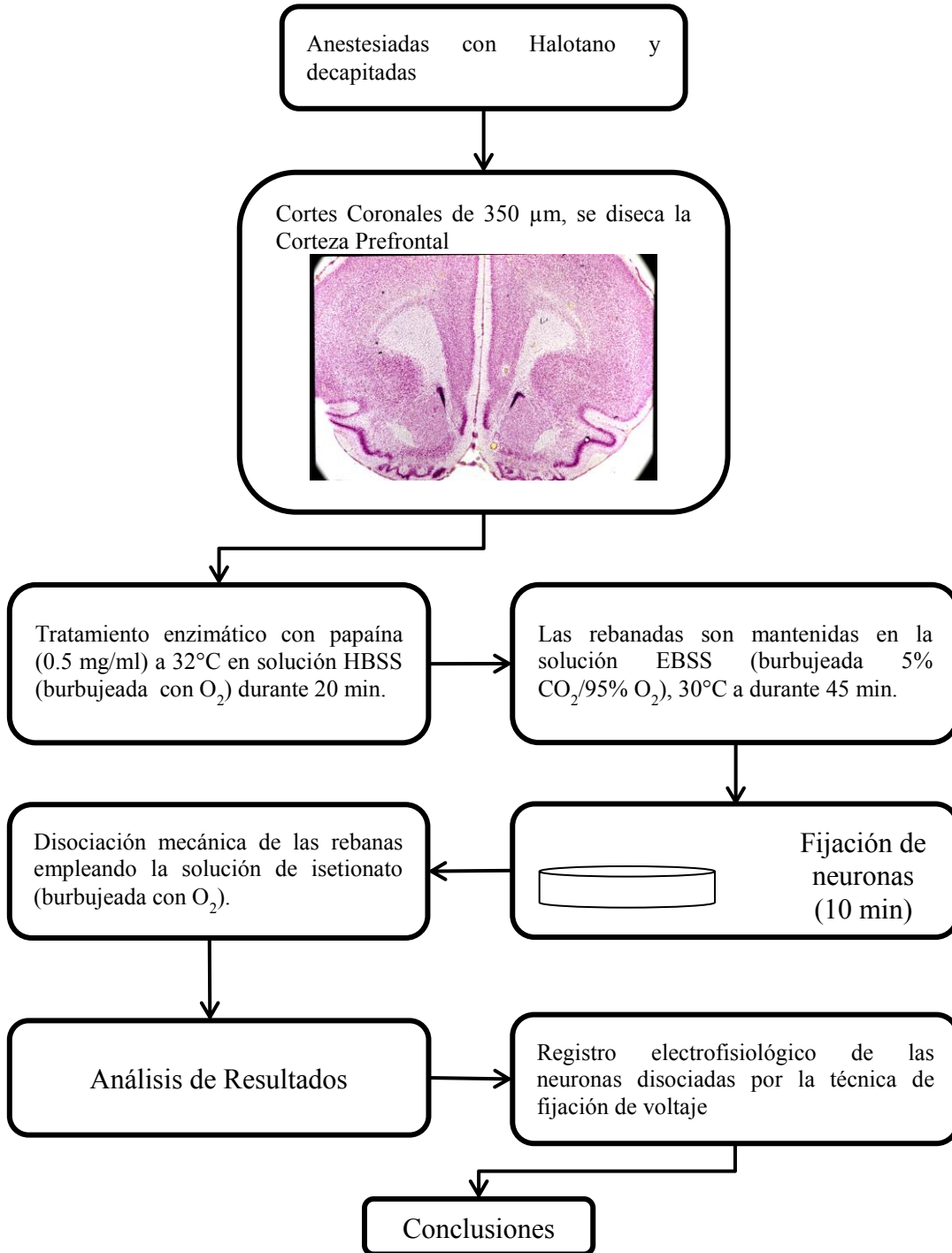
$\tau$  = Valor de  $\tau$

## 6 Diagrama de Trabajo

### 6.1 Modelo de hiperserotoninemia del desarrollo (DHS)



## 6.2 Disociación de Neuronas



## 7 Resultados

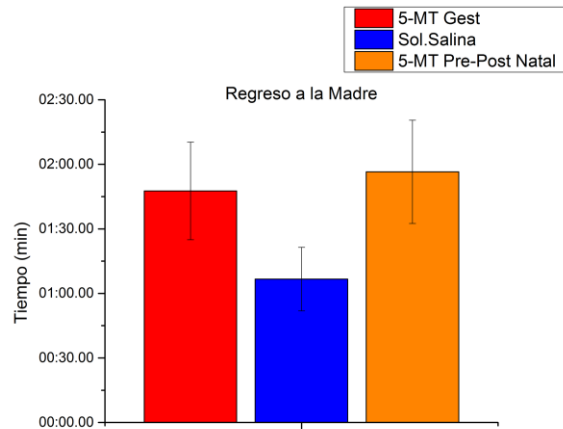
Tras el nacimiento de las crías de las madres administradas, éstas fueron clasificadas en 3 grupos distintos los cuales al revelarse el doble ciego se denominaron con la siguiente nomenclatura la cual se utilizará durante el resto del presente trabajo:

- **5-MT Gest:** Crías de ratas tratadas bajo el tratamiento de 5-MT (1mg/Kg) del GD11 hasta su nacimiento.
- **Sol. Salina:** Crías de ratas tratadas con solución salina del GD11 hasta su nacimiento.
- **5-MT Pre-Post Natal:** Crías bajo el tratamiento original del modelo DHS.

### 7.1 Pruebas de Comportamiento

#### 7.1.1 Regreso a la Madre

Las crías de ambos grupos tratados con 5-MT (5-MT Gest,  $n = 11$ ; 5-MT Pre-Post Natal,  $n = 13$ ) mostraron un mayor tiempo para cruzar a la misma cámara en que se encuentra la madre tras la separación (5-MT Gest,  $01:47.64 \pm 00:22.68$  min; 5-MT Pre-Post Natal,  $01:56.54 \pm 00:24.01$  min) con respecto a los controles tratados con solución salina ( $01:06.67 \pm 00:14.80$  min,  $n = 6$ ). Sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa para ninguno de los grupos.  $F(2, 27) = 1.01688$ ,  $p = 0.37516$  (**Gráfico 1**).



**Gráfico 1: Prueba de regreso a la madre PND17** (5-MT Gest, n=11; Sol. Salina, n=6; 5-MT Pre-Post Natal, n=13). Las crías de ambos grupos tratados con 5-MT muestran una tendencia a tardar más tiempo para entrar a la misma sección que la madre, sin embargo ésta no es estadísticamente significativa.

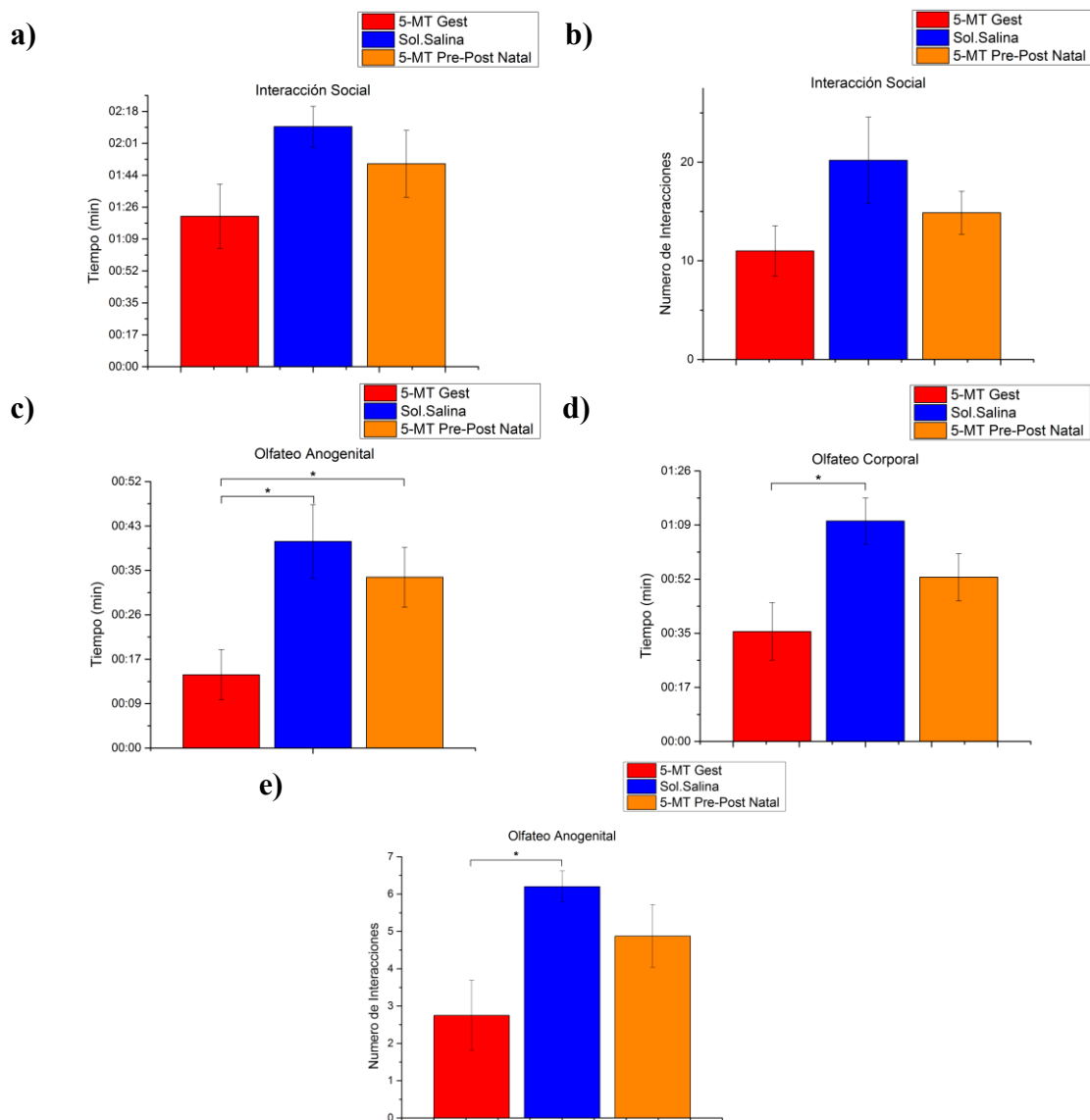
### 7.1.2 Interacción Social

Durante la prueba de Interacción Social se muestra de igual manera una tendencia no estadísticamente significativa por parte de las crías de las madres administradas con 5-MT (5-MT Gest, n = 8; 5-MT Pre-Post Natal, n = 8) a invertir menor tiempo en la interacción social (5-MT Gest, 01:21.50 ± 00:17.44 min; 5-MT Pre-Post Natal, 01:49.88 ± 00:18.10 min) con respecto a aquellas administradas con solución salina (Sol. Salina, 02:10.00 ± 00:11.04 min, n = 5)  $F(2, 18) = 2.10776$ ,  $p = 0.1505$ , así como el número de interacciones (5-MT Gest, n=11; Sol. Salina, n=6; 5-MT Pre-Post Natal, n=13),  $F(2, 18) = 2.726$ ,  $p = 0.09243$ . Esta tendencia se muestra principalmente acentuada en el grupo 5-MT Gest el cual presentó el menor tiempo y número de interacciones en la suma de los promedios de las 5 conductas sociales consideradas (Olfateo Anogenital, Olfateo corporal, monta no reproductiva, aseó mutuo y juego). De igual modo, presento reducción en la comparativa de tiempo empleado en el olfateo anogenital ( $14.25 \pm 04.89$  seg), y corporal ( $35.13 \pm 09.23$  seg) de la rata extraña comparada con el grupo administrado con solución salina ( $40.20 \pm$

07.17 seg y  $70.40 \pm 07.41$  seg, respectivamente), así como el número de olfateos anogenitales (5-MT Gest,  $2.75 \pm 0.94$ ; Sol. Salina,  $6.2 \pm 0.42$ ), casos particulares mostrados en los **Gráfico 2c**, **Gráfico 2d**, y **Gráfico 2e**, los cuales son estadísticamente significativos (tiempo de olfateo anogenital,  $F[2, 18] = 6.08275$ ,  $p = 0.00959$ ; tiempo de olfateo corporal,  $F[2,18] = 4.47643$ ,  $p = 0.02642$ ; número de olfateos anogenitales  $F[2, 18] = 4.41018$ ,  $p = 0.02762$ ).

**Tabla 1: Resultados de las pruebas de conducta**

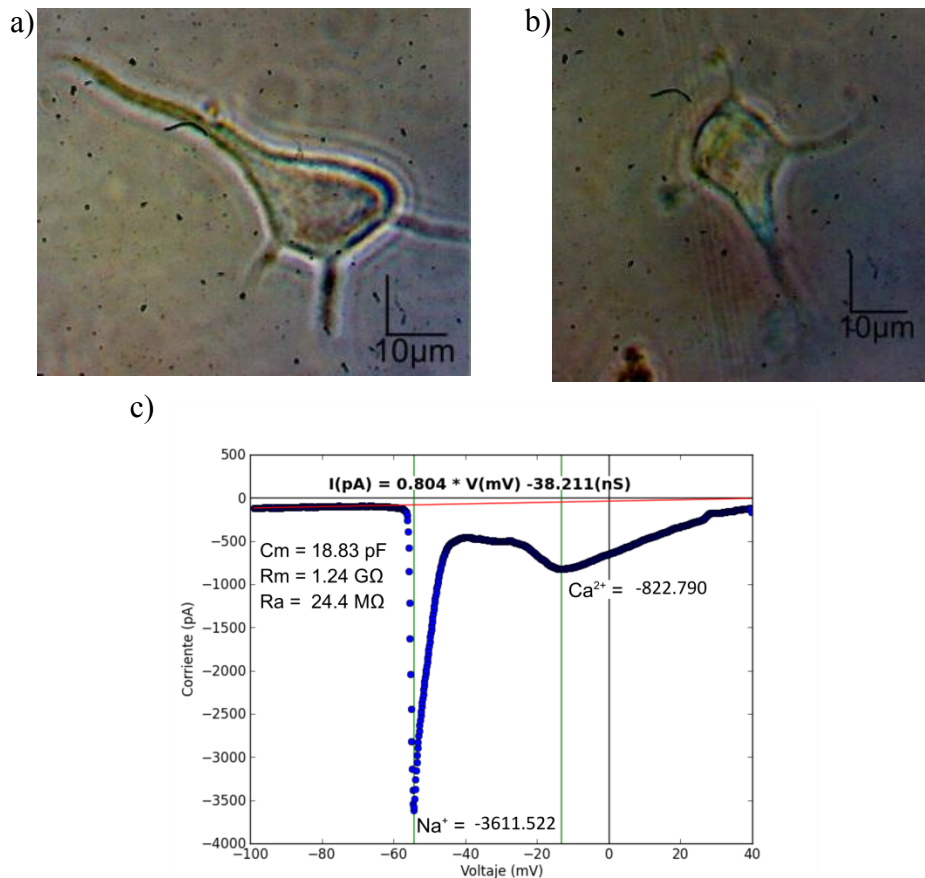
| Conducta                               | Grupo          |                  |                |                  |                     |                  | ANOVA                       | Probabilidad   |
|--|----------------|------------------|----------------|------------------|---------------------|------------------|-----------------------------|----------------|
|  | 5-MT Gest      |                  | Sol.Salina     |                  | 5-MT Pre-Post Natal |                  |                             |                |
| Regreso a la Madre (min:seg)           | 01:47.6        | ± 00:22.7        | 01:06.7        | ± 00:14.8        | 01:56.5             | ± 00:24.0        | 1.01688                     | 0.37516        |
| Total de Interacción Social (min:seg)  | 01:21.5        | ± 00:17.4        | 02:10.0        | ± 00:11.0        | 01:49.9             | ± 00:18.1        | 2.10776                     | 0.1505         |
| Total de Interacción Social (Cantidad) | 11             | ± 2.57           | 20.2           | ± 4.38           | 14.875              | ± 2.17           | 2.726                       | 0.09243        |
| <b>Olfateo Anogenital (min:seg)</b>    | <b>00:14.3</b> | <b>± 00:04.9</b> | <b>00:40.2</b> | <b>± 00:07.2</b> | <b>00:33.3</b>      | <b>± 00:05.8</b> | <b>6.08275</b>              | <b>0.00959</b> |
| <b>Olfateo Anogenital (Cantidad)</b>   | <b>2.75</b>    | <b>± 0.94</b>    | <b>6.2</b>     | <b>± 0.42</b>    | <b>4.875</b>        | <b>± 0.84</b>    | <b>4.41018</b>              | <b>0.02762</b> |
| <b>Olfateo Corporal (min:seg)</b>      | <b>00:35.1</b> | <b>± 00:09.2</b> | <b>01:10.4</b> | <b>± 00:07.4</b> | <b>00:52.5</b>      | <b>± 00:07.5</b> | <b>4.47643</b>              | <b>0.02642</b> |
| Olfateo Corporal (Cantidad)            | 5              | ± 1.32           | 9.2            | ± 1.47           | 9.125               | ± 1.63           | 3.05637                     | 0.07198        |
| Monta no Reproductiva (min:seg)        | 00:03.9        | ± 00:01.8        | 00:05.8        | ± 00:04.4        | 00:01.3             | ± 00:01.3        | 2.87212<br>(Kruskal-Wallis) | 0.23786        |
| Monta no Reproductiva (Cantidad)       | 1.125          | ± 0.47           | 1.8            | ± 1.24           | 0.125               | ± 0.13           | 3.87511<br>(Kruskal-Wallis) | 0.14406        |
| Aseo Mutuo (min:seg)                   | 00:09.0        | ± 00:06.7        | 00:08.4        | ± 00:04.3        | 00:05.9             | ± 00:02.8        | 0.57484<br>(Kruskal-Wallis) | 0.7502         |
| Aseo Mutuo (Cantidad)                  | 1              | ± 0.53           | 1.2            | ± 0.82           | 0.625               | ± 0.28           | 0.24165<br>(Kruskal-Wallis) | 0.88619        |
| Juego (min:seg)                        | 00:19.3        | ± 00:07.0        | 00:05.2        | ± 00:02.6        | 00:17.0             | ± 00:10.6        | 0.73412                     | 0.49376        |
| Juego (Cantidad)                       | 2.75           | ± 1.19           | 0.6            | ± 0.27           | 2                   | ± 1.25           | 0.91853<br>(Kruskal-Wallis) | 0.63175        |



**Gráfico 2: Resultados de la prueba de Interacción Social el PND35 (5-MT Gest, n=8; Sol. Salina, n=5; 5-MT Pre-Post Natal, n=8).** **a)** Tiempo total empleado en las 5 conductas sociales consideradas en que se presenta una tendencia a invertir menor tiempo en la interacción social, principalmente por parte del grupo 5-MT Gest. **b)** Promedio de la suma total de interacciones sociales durante los 10 minutos de duración de la prueba. **c)** Tiempo total invertido en la conducta de olfateo anogenital durante los 10 minutos de duración de la prueba donde se puede apreciar una reducción significativa en el tiempo invertido en esta conducta en el grupo 5-MT Gest con respecto a los otros dos grupos. **d) y f)** Respectivamente, tiempo total invertido en la conducta de olfateo corporal y número de olfateos anogenitales durante los 10 minutos de prueba, mostrando ambas una diferencia significativa entre el grupo 5-MT Gest y Sol. Salina. (\*,  $p < 0.05$  en post-prueba Bonferroni entre grupos)

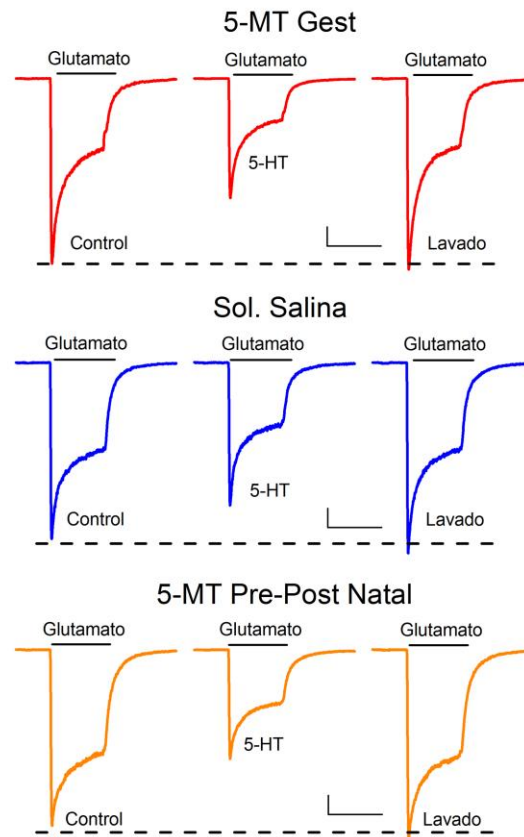
## 7.2 Análisis Electrofisiológico

Para su registro, se eligieron células piramidales con el tamaño entre ellas lo más uniforme posible, la menor longitud y número de dendritas, y que mantuviera sus características morfológicas (**Figura 9a** y **Figura 9b**), confirmándose su viabilidad a través de un protocolo de Rampa (-100 mV a +40 mV) con duración de 200 ms (**Figura 9c**) tomándose en cuenta solo aquellas células que presentaran una resistencia de membrana mayor a  $1\text{G}\Omega$  y una resistencia de acceso menor a  $25\text{M}\Omega$ . El área de las células registradas se determinó por su capacitancia, dichas células oscilaron entre 10 y 20 pF no mostrando diferencias significativas entre los grupos ( $F[2, 32] = 1.13942, p = 0.33265$ ).



**Figura 9: Viabilidad de las células. a) y b) Microfotografías de ejemplo de las células agudamente disociadas utilizadas para el registro de las corrientes de glutamato. c) Ejemplo de un trazo representativo obtenido a partir del análisis del protocolo de Rampa (-100 mV a +40 mV) acompañado de los principales datos que confirman la viabilidad de la célula.**

Durante el análisis electrofisiológico se encontró una reducción en las corrientes activadas por glutamato ( $100 \mu\text{M}$ ) en presencia de 5-HT ( $40 \mu\text{M}$ ) con respecto a las condiciones control para los tres grupos analizados, la cual es mostrada en el **Gráfico 3**.

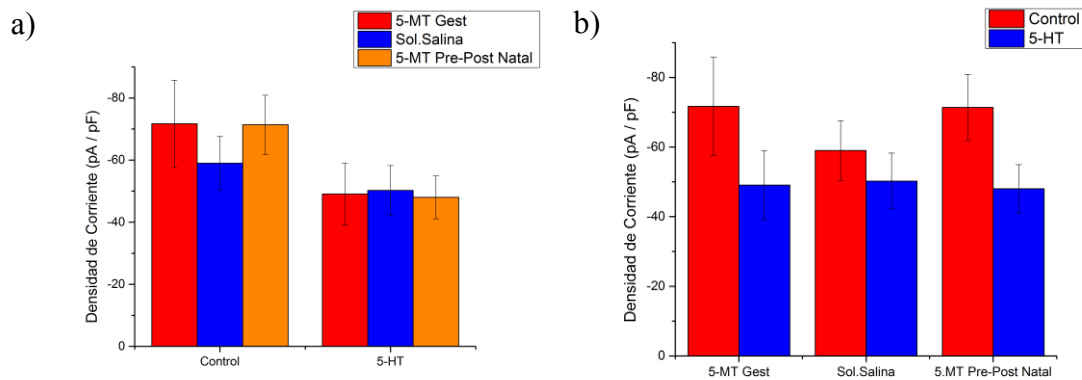


**Gráfico 3:** Corrientes activadas por glutamato ( $100 \mu\text{M}$ ). Trazos representativos de corriente (normalizada) contra tiempo mostrados en condiciones control, en presencia de 5-HT ( $40 \mu\text{M}$ ) y tras el lavado para cada uno de los grupos. Marca de escala: 0.1 vs 3000 ms.

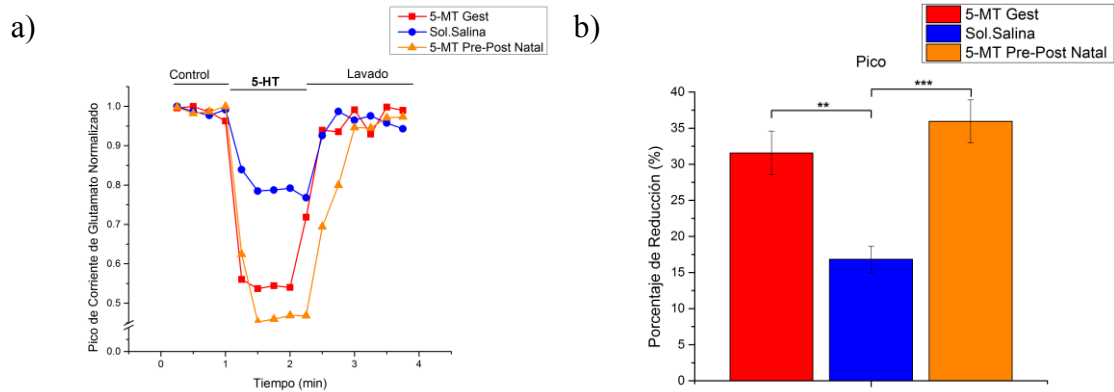
Tras el análisis de las corrientes activadas por glutamato, se estudió el tamaño de la corriente, la cual se determinó a través de la relación guardada entre el pico y el tamaño de la célula (densidad de corriente,  $\text{pA} / \text{pF}$ ), no encontrándose diferencias significativas entre los tres grupos tanto bajo condiciones control ( $F[2, 32] = 0.59477$ ,  $p = 0.55851$ ); como en presencia de 5-HT ( $F[2, 32] = 0.02372$ ,  $p = 0.97658$ ) tal y como se muestra en el **Gráfico 4a**. Sin embargo, se apreció una diferencia al comparar ambas condiciones dentro de cada

uno de los grupos (**Gráfico 4b**), diferencia la cual es concordante con la encontrada al analizar la modulación serotoninérgica del pico de corriente activado por glutamato (mostrada a continuación), análisis el cual muestra de manera más clara y perceptible estos cambios.

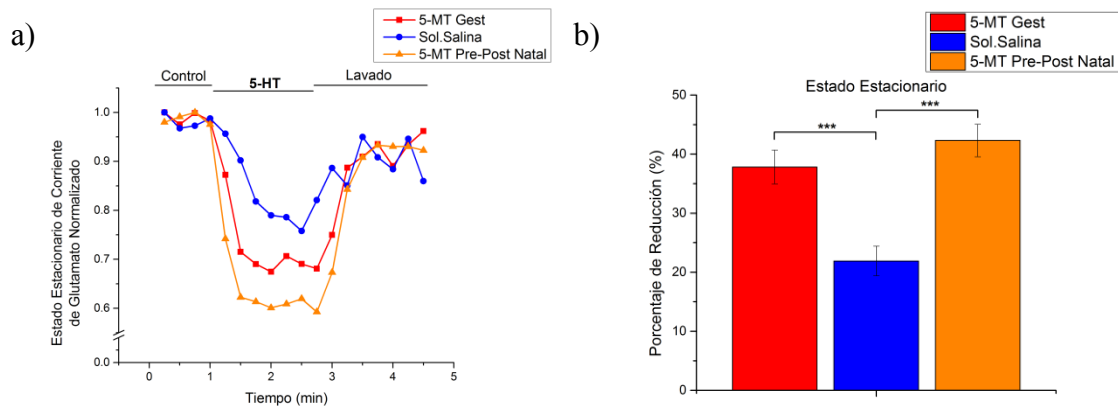
Durante el estudio de la modulación serotoninérgica de las corrientes activadas por glutamato, se encontraron diferencias significativas entre los grupos, tanto en el estudio de la reducción del pico de la corriente ( $F[2, 32] = 16.17704, p < 0.001$ ) como para la reducción del estado estacionario ( $F[2, 32] = 17.87971, p < 0.001$ ). Se identificó una reducción clara mostrada en los **Gráfico 5** y **Gráfico 6**, con una diferencia significativa para el porcentaje de reducción del pico en las poblaciones 5-MT Gest ( $n = 10$ ) y 5-MT Pre-Post Natal ( $n = 13$ ) en comparación con la población tratada con solución salina ( $n = 12$ ) al realizar la post-prueba de Bonferroni entre pares ( $p < 0.01$  y  $p < 0.001$  respectivamente). De igual manera, una diferencia altamente significativa fue hallada para el porcentaje de reducción del estado estacionario entre las tratadas con 5-MT y la población tratada con solución salina al realizar la misma post-prueba (5-MT Gest,  $p < 0.001$ ; 5-MT Pre-Post Natal,  $p < 0.001$ ).



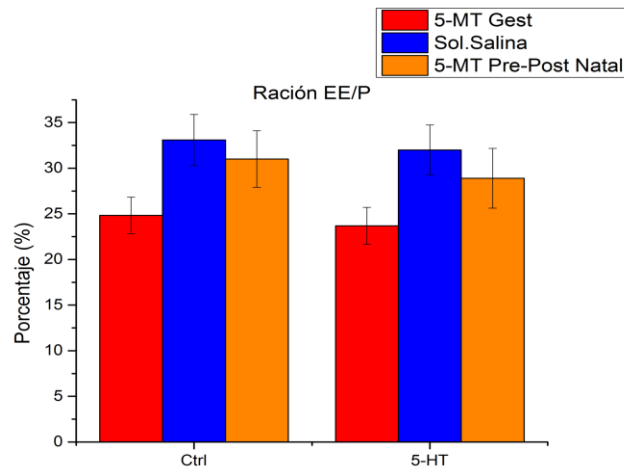
**Gráfico 4: Densidad de Corriente.** a) No se encontraron diferencias significativas para los grupos en la relación guardada entre el pico de la corriente y el tamaño de la célula en ninguna de las dos condiciones probadas. Sin embargo, se aprecia una diferencia entre las dos condiciones al ser acomodados los mismos datos de manera comparativa en cada uno de los grupos utilizados como se muestra en b).



**Gráfico 5: Modulación serotoninérgica del pico de corriente.** a) Cursos temporales de los picos de la corriente activada por glutamato ( $100\mu\text{M}$ ) normalizados en los que se observa claramente la diferencia en la reducción entre los grupos tratados con 5-MT y el grupo tratado con solución salina. b) Porcentaje de reducción del pico de corriente entre los tres grupos analizados mostrando una diferencia altamente significativa entre los grupos tratados con 5-MT (5-MT Gest,  $31.56 \pm 3.00\%$ ; 5-MT Pre-Post Natal,  $35.93 \pm 2.99\%$ ) y aquel tratado con solución salina ( $16.83 \pm 1.79\%$ ). (\*,  $p<0.05$ ; \*\*,  $p<0.01$ ; \*\*\*,  $p<0.001$  en post-prueba Bonferroni entre grupos).



**Gráfico 6: Modulación serotoninérgica del estado estacionario.** a) Cursos temporales de los estados estacionarios de la corriente activada por glutamato ( $100\mu\text{M}$ ) normalizados en los que se observa claramente la diferencia en la reducción entre los grupos tratados con 5-MT y el grupo tratado con solución salina. b) Los grupos tratados con 5-MT presentaron una clara reducción altamente significativa (5-MT Gest,  $37.82 \pm 2.86\%$ ; 5-MT Pre-Post Natal,  $42.32 \pm 2.74\%$ ) en el porcentaje de reducción del estado estacionario con respecto al grupo tratado con solución salina ( $21.91 \pm 2.49\%$ ). (\*,  $p<0.05$ ; \*\*,  $p<0.01$ ; \*\*\*,  $p<0.001$  en post-prueba Bonferroni entre grupos).

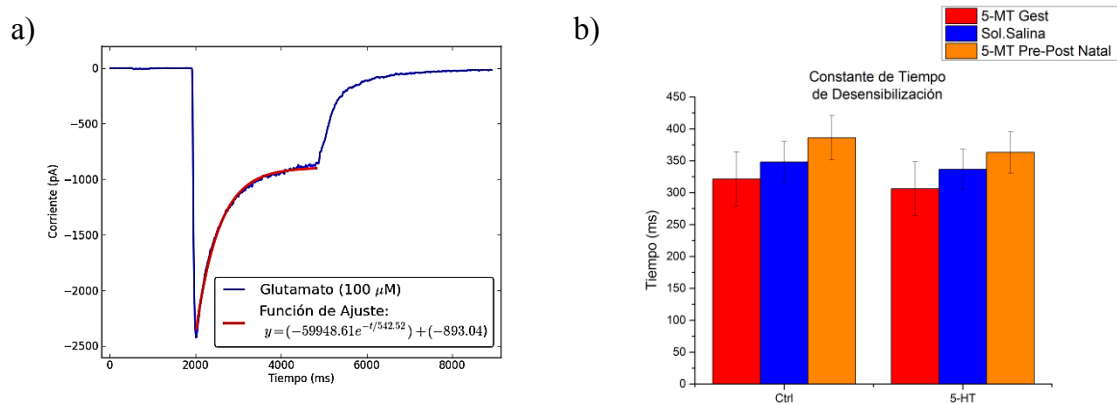


**Gráfico 7: Relación EE/P.** No se encontró diferencia significativa entre los grupos en el análisis de la relación entre el estado estacionario y el pico de la corriente activadas por glutamato en condiciones control, ni en presencia de 5-HT (40 $\mu$ M); sin embargo, se puede observar una tendencia por parte del grupo 5-MT Gest a presentar un estado estacionario de menor tamaño en relación al tamaño del Pico de corriente

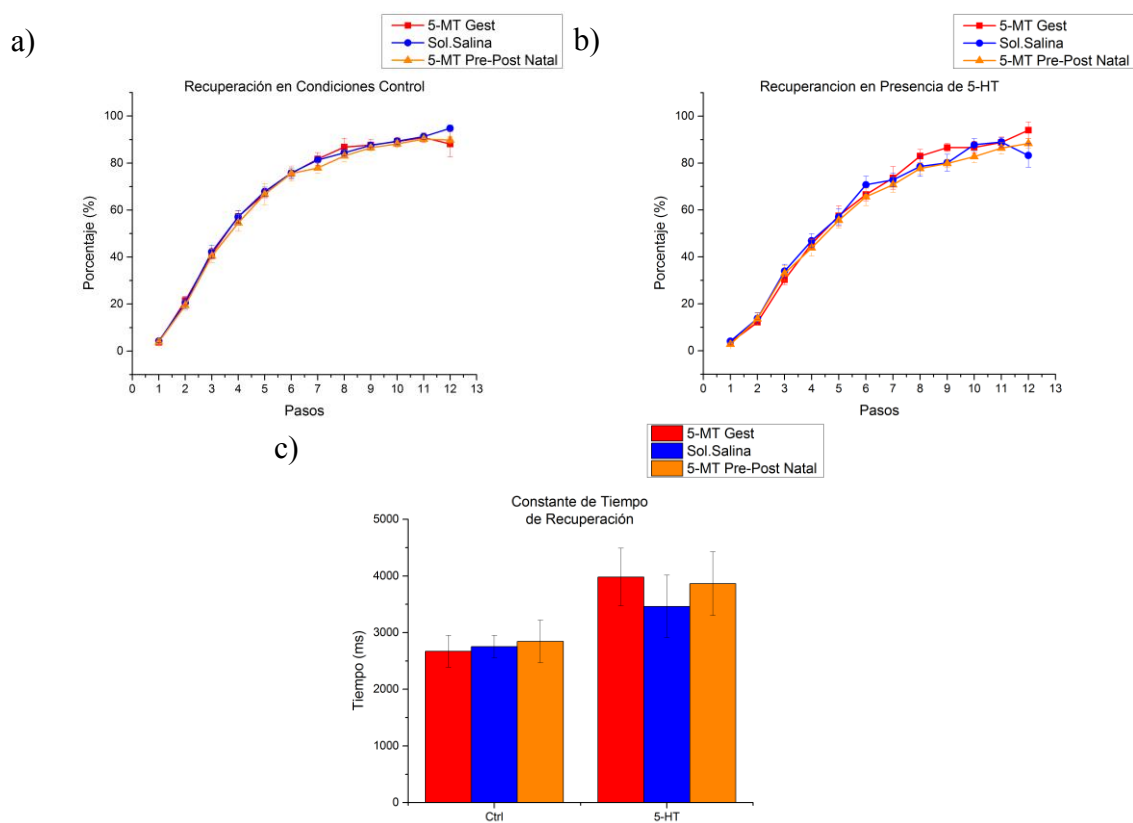
En contraste, la relación entre el estado estacionario y pico de la corriente activada por glutamato, no presentó diferencias significativas para ninguno de los grupos en condiciones control ( $F[2, 32] = 2.37803$ ,  $p = 0.10893$ ), ni en presencia de serotonina ( $F[2, 32] = 2.72918$ ,  $p = 0.08047$ ); sin embargo, se puede observar una leve tendencia por parte del grupo 5-MT Gest a presentar un estado estacionario de menor tamaño en relación al tamaño del Pico de corriente (**Gráfico 7**).

De igual manera, la comparación entre los tres grupos para el análisis de los tiempos de la constante de desensibilización, mostrada en el **Gráfico 8b**, no mostró diferencias significativas en ninguna de las dos condiciones, (control,  $F[2, 32] = 0.86967$ ,  $p = 0.42876$ ; presencia de 5-HT,  $F[2, 32] = 0.70592$ ,  $p = 0.50118$ ).

Por su parte, tras el análisis estadístico de los resultados del protocolo de recuperación, como se muestra en el **Gráfico 9**, tampoco se presentan diferencias significativas en el tiempo necesario para la recuperación total de la corriente activada por glutamato para ninguno de los tres grupos tanto en condiciones control ( $F[2, 22] = 0.09608$ ,  $p = 0.90877$ ), como en presencia de 5-HT ( $F[2, 22] = 0.25378$ ,  $p = 0.77875$ ).



**Gráfico 8: Constante de Tiempo de Desensibilización.** a) Ejemplo del gráfico de una corriente activada por glutamato con el trazo de una función de decaimiento exponencial ajustada a los datos b) El análisis de los tiempos de la constante de desensibilización no mostró diferencias significativas para ninguno de los tres grupos en condiciones control ni en presencia de 5-HT(40μM).



**Gráfico 9: Constante de Tiempo de Recuperación.** a) y b) Gráficas de las curvas promedio de recuperación de los tres grupos tanto en condiciones control como en presencia de 5-HT(40μM) respectivamente. c) No se encontraron diferencias entre en la comparativa de los promedios de la constante de tiempo de recuperación, tanto en condiciones control como en presencia de 5-HT.

**Tabla 2: Resultados del estudio electrofisiológico**

| Conducta                                    | Grupo         |                |               |                |                     |                | ANOVA         | Probabilidad    |
|---|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------------|----------------|---------------|-----------------|
|   | 5-MT Gest     |                | Sol.Salina    |                | 5-MT Pre-Post Natal |                |               |                 |
| Densidad de corriente en control (pA/pF)    | -71.682       | ± 14.062       | -58.994       | ± 8.584        | -71.374             | ± 9.533        | 0.595         | 0.559           |
| Densidad de corriente en 5-HT (pA/pF)       | -49.062       | ± 9.938        | -50.219       | ± 8.023        | -48.021             | ± 6.909        | 0.024         | 0.977           |
| <b>Reducción del Pico (%)</b>               | <b>31.567</b> | <b>± 3.003</b> | <b>16.838</b> | <b>± 1.797</b> | <b>35.938</b>       | <b>± 2.997</b> | <b>16.177</b> | <b>1.40E-05</b> |
| <b>Reducción de Estado Estacionario (%)</b> | <b>37.821</b> | <b>± 2.861</b> | <b>21.915</b> | <b>± 2.499</b> | <b>42.322</b>       | <b>± 2.746</b> | <b>17.880</b> | <b>6.12E-06</b> |
| EE/P en Control (%)                         | 24.827        | ± 2.004        | 33.095        | ± 2.804        | 31.010              | ± 3.102        | 2.378         | 0.109           |
| EE/P en 5-HT (%)                            | 23.692        | ± 2.026        | 32.010        | ± 2.744        | 28.895              | ± 3.274        | 2.729         | 0.080           |
| Tau en Control (ms)                         | 321.394       | ± 42.842       | 348.081       | ± 32.133       | 385.936             | ± 34.709       | 0.870         | 0.429           |
| Tau en 5-HT (ms)                            | 306.186       | ± 42.118       | 336.709       | ± 31.560       | 363.241             | ± 32.634       | 0.706         | 0.501           |
| Tau de Recuperación en Control (ms)         | 2671.128      | ± 281.597      | 2753.438      | ± 199.214      | 2844.700            | ± 374.730      | 0.096         | 0.909           |
| Tau de Recuperación en 5-HT (ms)            | 3982.088      | ± 509.133      | 3462.297      | ± 550.894      | 3863.196            | ± 562.173      | 0.254         | 0.779           |

## 8 Discusión

En el presente estudio, se realizaron las pruebas de “Regreso a la madre” e interacción social en campo abierto para medir la influencia del fármaco y la diferencia en los tratamientos de ambos grupos administrados con 5-MT sobre la conducta social, una de las características distintivamente afectadas en el modelo de hiperserotonemia durante el desarrollo (modelo DHS). En estas pruebas, respectivamente, se encontró una tendencia a la disminución en el apego a la madre y una disminución tanto en tiempo como en número de interacciones sociales por parte de ambos grupos con respecto al grupo tratado con solución salina (**Gráfico 1, Gráfico 2a y Gráfico 2b**). Sin embargo, a pesar de coincidir con lo reportado por Whitaker-Azmitia y su equipo (McNamara et al., 2008) los resultados no fueron estadísticamente representativos, lo cual puede deberse a la diferencia en el tamaño de los grupos, siendo mucho mayores los del equipo de Whitaker-Azmitia, lo cual reduciría en gran medida el error estándar, permitiendo así la significancia de los resultados. Otra posibilidad para la diferencia en la significancia, puede ser resultado del cambio en el horario de aplicación de las pruebas, habiendo sido realizadas durante la fase activa (primera mitad de la fase nocturna, 18:00-21:00 hrs) en vez del horario reportado (12:00 y 15:00 hrs). El cambio anterior, fue hecho en base a datos previos que demuestran que la interacción social es mayor durante la primer mitad de la fase nocturna (Kask, Nguyen, Pabst, & von Hörsten, 2001).

No obstante a las modificaciones y disimilitudes previamente citadas, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo y número de interacciones de olfateo anogenital para el grupo 5-MT Gest con respecto al grupo tratado con solución salina (**Gráfico 2c y Gráfico 2e**), lo cual concuerda con lo reportado por el equipo de Whitaker-Azmitia (McNamara et al., 2008) y otros estudios que relacionan la disminución en esta conducta con daño en las terminales serotoninérgicas (Hall, Sell, & Hurley, 2011; Morley, Arnold, & McGregor, 2005). Del mismo modo, se encontró una disminución significativa en el tiempo de olfateo corporal para la comparativa en estas mismas poblaciones, lo cual, en conjunto, sugiere una disminución en toda conducta social basada

en el olfato.

La disminución social basada en el olfato anteriormente expuesta podría ser explicado por una disminución de Oxitocina producida por la reducción de terminales serotoninérgicas consecuencia del tratamiento, tal y como lo postula Whitaker Azmitia (2005), esto, debido a la importancia de ésta hormona en la tarea de reconocimiento social (Jennifer N. Ferguson, Young, & Insel, 2002; J. N. Ferguson, Insel, Young, & Aldag, 2001; Winslow & Insel, 2002) y la dependencia a la serotonina para la secreción de la misma (Jørgensen, Kjaer, Knigge, Møller, & Warberg, 2003). Sin embargo, las alteraciones en el número de células productoras de Oxitocina en el núcleo paraventricular ante un tratamiento similar al utilizado durante éste estudio se ha reportado principalmente en hembras (Madden & Zup, 2014) las cuales no fueron consideradas en el presente trabajo.

Una explicación alternativa para la disminución de la conducta social basada en el olfato encontrada en los grupos tratados con 5-MT, puede ser la disminución en la inervación serotoninérgica del bulbo olfatorio, de modo similar a como ocurre tras las exposición durante el desarrollo temprano al inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina citalopram (J. Zhang et al., 2013). El bulbo olfatorio se encuentra profusamente inervado por proyecciones serotoninérgicas provenientes de los núcleos de rafé dorsal y medial, principalmente en su capa glomerular (McLean & Shipley, 1987b), donde la serotonina modula las entradas de olor en el bulbo olfatorio por despolarización directa de algunas células mitrales y de penacho a través de los receptores 5-HT<sub>2A/C</sub> e hiperpolarización indirecta de otras por medio de inhibiciones mediadas por GABA (Fletcher & Chen, 2010; Hardy, Palouzier-Paulignan, Duchamp, Royet, & Duchamp-Viret, 2005; Liu, Aungst, Puche, & Shipley, 2012; Petzold, Hagiwara, & Murthy, 2009). Aunado a lo anterior, a nivel de las células receptoras del olfato, se han encontrado receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>1B</sub>, los cuales se ha demostrado regulan las corrientes salientes de potasio de éstas células (Gao et al., 2013). De éste modo, la densa proyección al bulbo olfativo desde los núcleos de rafé sugiere que el sistema serotoninérgico puede influir significativamente la integración sináptica en el sistema olfatorio en su nivel inicial (McLean & Shipley, 1987b). Así, la

alteración de los niveles de serotonina conlleva a alteraciones en el aprendizaje olfativo (McLean, Darby-King, Sullivan, & King, 1993; Moriizumi, Tsukatani, Sakashita, & Miwa, 1994), la preferencia de olores (McLean, Darby-King, & Hodge, 1996; McLean et al., 1993) y el reconocimiento social olfativo (Dulcy, Ganesh, & Rajan, 2010; Letty et al., 1997). Incluso, si la reducción de los niveles de serotonina se presenta durante el desarrollo, la innervación serotoninérgica al bulbo olfativo disminuye, tanto de vertebrados como de invertebrados (Benton, Huber, Ruchhoeft, Helluy, & Beltz, 1997; Dulcy et al., 2010; Oland & Tolbert, 1996; Sullivan, Benton, & Beltz, 2000). Sin embargo, la disminución en la innervación serotoninérgica debida a la reducción de los niveles de serotonina durante los primeros días postnatales es revertida parcialmente en edades posteriores (Dulcy et al., 2010) a comparación de lo ocurrido al inhibir la recaptura de serotonina a edades similares, caso en que la disminución de la innervación es apreciable aun en edades adultas (J. Zhang et al., 2013). Dado lo anterior, se soporta la teoría de una disminución en la innervación serotoninérgica del bulbo olfatorio como explicación de los resultados conductuales mostrados en el presente trabajo. No obstante, el hecho de que el grupo con mayor afectación sea el grupo 5-MT Gest a pesar de que dicha innervación se da hasta un periodo postnatal (McLean & Shipley, 1987a), sugiere que el daño es previo a la innervación del bulbo olfatorio y posiblemente no localizado directamente en éste.

Por otra parte, es de interés señalar que en el grupo 5-MT Gest se presentaron casos en que la interacción social fue prácticamente nula, mismos los cuales presentaban una marcada disminución en su tamaño, la cual alcanzó hasta un 50% del tamaño de aquellos tratados con solución salina (no reportado), ambas, características que no se presentaron de modo tan marcado en el grupo 5-MT Pre-Post Natal. Además, se encontró también una diferencia significativa entre los grupos previamente citados en el tiempo invertido en la conducta de olfateo anogenital (**Gráfico 2c**). La diferencia existente en la conducta y características físicas entre ambos grupos tratados con 5-MT, puede deberse a la influencia de la serotonina durante la fase post-natal, es decir el agonista serotoninérgico 5-MT puede estar cumpliendo parte de las funciones de la serotonina en el neurodesarrollo a través de la activación de sus receptores, ya que la sinaptogénesis y la elaboración de dendritas aun

depende de éste neurotransmisor tras el nacimiento de la cría (Patricia M. Whitaker-Azmitia, 2010). Así, debido al tratamiento durante la fase gestacional, la dosis administrada puede estar, si no ayudando a una mejoría, evitando un mayor daño consecuencia de la disminución de las terminales serotoninérgicas provocada por la administración de 5-MT a las madres gestantes. Por lo cual, los resultados de éstas pruebas y sobre todo la diferencia existente entre ambos grupos administrados con 5-MT, uno solamente durante la gestación y el otro de manera gestacional y postnatal, refuerzan la teoría sobre la importancia e implicación de los niveles de serotonina materna en el correcto desarrollo del sistema nervioso central de la cría y en particular del sistema serotoninérgico de ésta.

En lo respectivo al estudio electrofisiológico, en base a la localización de los diferentes receptores ionotrópicos a glutamato (Dodt, Frick, Kampe, & Zieglgänsberger, 1998; Eder et al., 2003) y las características de las corrientes obtenidas, argüimos que corresponden principalmente al receptor NMDA, lo que corresponde también al efecto de la serotonina sobre la corriente obtenida, ya que la bibliografía reporta una disminución del  $17.1 \pm 1.0\%$  de la corriente NMDA en presencia de serotonina (Yuen et al., 2005), valor el cual es muy próximo al obtenido ( $16.84 \pm 1.79\%$ ). Sin embargo, el análisis del tamaño de la corriente, las características del pico, estado estacionario, relación Estado estacionario/Pico y constante de tiempo de desensibilización ( $\tau$ ), no mostraron diferencias significativas entre los grupos, del mismo modo que la constante de tiempo de recuperación, lo cual sugiere que el tratamiento no cambia las características de los receptores a glutamato.

Por otro lado, al analizar el efecto modulador de la Serotonina sobre las corrientes activadas por glutamato se encontraron diferencias altamente significativas entre los grupos tratados con 5-MT y el tratado con solución salina, tanto en la reducción del pico, como en la reducción del estado estacionario (**Gráfico 5 y Gráfico 6**), hecho que alude a cambios de larga duración/permanente en la regulación serotoninérgica en respuesta a la alteración de los niveles de serotonina maternos, tal y como lo postulan diversos trabajos (Bezek, Ujházy, Mach, Navarová, & Dubovický, 2008; Blažević, Jurčić, & Hranilović, 2010; Hranilovic, Blazevic, Ivica, Cicin-Sain, & Oreskovic, 2011; P. M. Whitaker-Azmitia, 2001).

Dado que los principales receptores serotoninérgicos encontrados en neuronas piramidales de la capa V-VI de CPF son el receptor 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub>, el incremento obtenido en la reducción para los grupos tratados con 5-MT en comparación con los tratados con solución salina pueden ser explicados tanto por una disminución en el número o sensibilidad del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, como por el aumento en cualquiera de estos mismos ámbitos para el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Es decir, debido al efecto opuesto de estos receptores sobre la corriente NMDA (Yuen et al., 2008), aunado a la diferencia en la sensibilidad de los mismo (Barnes & Sharp, 1999; Peroutka & Snyder, 1979), su activación simultánea en el soma de la neurona piramidal provocaría una respuesta predominante inhibitoria pero menor a la evocada si solo se activara el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Sin embargo, una reducción en el número y/o sensibilidad del receptor 5-HT<sub>2A</sub> acercaría mucho el efecto de la serotonina sobre ésta región al de activar exclusivamente al receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Por otro lado, el aumento de número y/o sensibilidad del receptor 5-HT<sub>1A</sub> desencadenaría efectos inhibitorios capaces de superar el antagonismo por parte del receptor 5-HT<sub>2A</sub> enmascarando por completo la participación de éste último.

Ambas teorías anteriormente expuestas son adaptaciones posibles a la hiperserotoninemia materna imitada por la administración del agonista serotoninérgico 5-MT, debido a que ambas conllevan mecanismos que compensarían el exceso de éste neurotransmisor.

Por un lado, una disminución del número y/o sensibilidad del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, podría deberse al papel que juega dicho receptor en la liberación de serotonina en la corteza prefrontal por medio de la activación de los circuitos CPF-NR (Martín-Ruiz et al., 2001; Puig et al., 2004; Zhong et al., 2008). Lo anterior, ya que al reducir la función de éste receptor en particular se reduciría la liberación de 5-HT en dicha área, reduciendo así la probabilidad de una posible sobreexcitación de las neuronas piramidales a nivel de la dendrita apical causada por un exceso de serotonina. Además, ya que éste receptor se ve implicado en la morfogénesis de las espinas dendríticas (Jones et al., 2009; Yoshida et al., 2011) su correcta modulación evitaría cambios en la arquitectura dendrítica y la conectividad sináptica como las encontradas en éste modelo (Hough & Segal, 2015).

Por otro lado, el aumento del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en las mismas instancias previamente mencionadas tendría de igual modo inferencia en compensar el exceso de serotonina debido a su función como autoreceptor (Albert, Le François, & Millar, 2011; Blier, Piñeyro, el Mansari, Bergeron, & de Montigny, 1998), inhibiendo la exocitosis de neurotransmisor frente a menores concentraciones del mismo. Así mismo, a nivel de la CPF, contrarrestaría la sobreexcitación provocada por el aumento de actividad del receptor 5-HT<sub>2A</sub> causada por el exceso de serotonina, esto debido a que la activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> suprime la señal mediada por AMPA y reduce las corrientes mediadas por NMDA (Cai et al., 2002; Yuen et al., 2005; Zhong et al., 2008). Además, un aumento de la inhibición de la exocitosis serotoninérgica sería una respuesta adaptativa coherente a un exceso de serotonina durante el desarrollo ya que durante ésta fase altas dosis de serotonina pueden conducir a una muerte neuronal (P. M. Whitaker-Azmitia & Azmitia, 1986).

Finalmente, no obstante al mecanismo que esté conduciendo al aumento en la reducción de la corriente activada por glutamato, dado a que la capa V de la CPF es la principal fuente de eferentes hacia gran número de zonas subcorticales y que ésta sobreinhibición causaría un silenciamiento de la misma, podría entonces ser importante partícipe de impedimentos en funciones emocionales, cognitivas y sociales de orden superior las cuales han sido ampliamente vinculadas con la CPF, sugiriendo esto la posibilidad de una relación entre dicho aumento en la reducción de la corriente y los cambios en la conducta social encontrados. Lo anterior, sin perder de vista que el sistema serotoninérgico se encuentra ampliamente distribuido por todo el SNC y que se ha demostrado la existencia de alteraciones en otras múltiples áreas como el sistema límbico, por lo cual se puede hablar de los trastornos en la CPF en este trabajo citados, solamente como participantes de los cambios en la conducta mencionados, más no como únicos causales.

Por otra parte, ya que las funciones emocionales, cognitivas y sociales se encuentran afectadas en algunos trastornos como el Autismo, los presentes hallazgos pueden ayudar al entendimiento de los mecanismos subyacentes y su posible etiología, por supuesto, lo

anterior, sin obviar la participación de otros núcleos participantes en dicho trastorno no profundizados en el presente trabajo dado su enfoque en la corteza prefrontal, como el núcleo paraventricular del hipotálamo y en el núcleo central de la amígdala.

## 9 Resumen de resultados

En base a los objetivos planteados se pueden resumir los siguientes hallazgos:

1. Desarrollar el modelo de Hiperserotoninemia materna por administración s.c. de 5-MT en rata.
  - El modelo animal de hiperserotoninemia durante el desarrollo (modelo DHS) es reproducible siguiendo el tratamiento especificado por su autora.
  - Una alteración en los niveles de serotonina durante la gestación de las crías es capaz de provocar cambios de larga duración/permanente en las crías.
  - Los cambios provocados a las crías del modelo DHS se encuentran principalmente dados durante la fase gestacional.
  
2. Evaluar conductualmente a los críos de ratas tratadas con hiperserotoninemia materna.
  - Las crías bajo el tratamiento del modelo DHS presentan una disminución en la conducta social con respecto a las crías tratadas con solución salina.
  - Las alteraciones en la conducta de las crías bajo tratamiento del modelo DHS se encuentran directamente relacionados con los niveles de serotonina de la madre.
  - Una hiperserotoninemia materna durante el desarrollo es capaz de producir cambios en la conducta de las crías
  
3. Inducir corrientes iónicas activadas por Glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de la capa 5-6 de corteza prefrontal de rata.
  - El aumento de los niveles de serotonina de las madres gestantes no provoca cambios en las características del pico, estado estacionario, relación Estado estacionario/Pico, constante de tiempo de desensibilización ni la constante de tiempo de recuperación.
  
4. Evaluar el efecto modulador de la Serotonina sobre las corrientes iónicas activadas por Glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de la capa 5-6 de corteza prefrontal de rata.
  - El aumento de los niveles de serotonina de las madres gestantes provoca un aumento en el porcentaje de reducción del pico y el estado estacionario de las corrientes activadas por glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de corteza prefrontal de las crías.
  - Una hiperserotoninemia materna durante el desarrollo es capaz de producir cambios en la modulación serotoninérgica de las corrientes activadas por glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de corteza prefrontal de las crías.

## **10 Conclusiones**

Una hiperserotoninemia materna durante el desarrollo es capaz de producir tanto cambios en la conducta como en la neuromodulación mediada por serotonina de las corrientes activadas por glutamato en neuronas piramidales agudamente disociadas de corteza prefrontal de las crías, cambios los cuales pueden tener participación en trastornos del desarrollo como el autismo.

## 11 Bibliografía

- Adolphs, R. (2003). Cognitive neuroscience of human social behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(3), 165–178. <http://doi.org/10.1038/nrn1056>
- Albert, P. R., Le François, B., & Millar, A. M. (2011). Transcriptional dysregulation of 5-HT1A autoreceptors in mental illness. *Molecular Brain*, 4, 21. <http://doi.org/10.1186/1756-6606-4-21>
- Amargós-Bosch, M., Bortolozzi, A., Puig, M. V., Serrats, J., Adell, A., Celada, P., ... Artigas, F. (2004). Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 14(3), 281–299.
- Anderson, G. M., Freedman, D. X., Cohen, D. J., Volkmar, F. R., Hoder, E. L., McPhedran, P., ... Young, J. G. (1987). Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 28(6), 885–900.
- Anderson, S. W., Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D., & Damasio, A. R. (1999). Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nature Neuroscience*, 2(11), 1032–1037. <http://doi.org/10.1038/14833>
- Andrade, R. (2011). Serotonergic regulation of neuronal excitability in the prefrontal cortex. *Neuropharmacology*, 61(3), 382–386. <http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.01.015>
- Arnsten, A. F. T. (2009). Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure

and function. *Nature Reviews. Neuroscience*, *10*(6), 410–422.

<http://doi.org/10.1038/nrn2648>

- Azmitia, E. C., Gannon, P. J., Kheck, N. M., & Whitaker-Azmitia, P. M. (1996). Cellular localization of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor in primate brain neurons and glial cells. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *14*(1), 35–46. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(96\)80057-1](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(96)80057-1)
- Bargas, J., Howe, A., Eberwine, J., Cao, Y., & Surmeier, D. J. (1994). Cellular and molecular characterization of Ca<sup>2+</sup> currents in acutely isolated, adult rat neostriatal neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *14*(11 Pt 1), 6667–6686.
- Barnes, N. M., & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, *38*(8), 1083–1152.
- Benton, J., Huber, R., Ruchhoeft, M., Helluy, S., & Beltz, B. (1997). Serotonin depletion by 5,7-dihydroxytryptamine alters deutocerebral development in the lobster, *Homarus americanus*. *Journal of Neurobiology*, *33*(4), 357–373.
- Bezek, S., Ujházy, E., Mach, M., Navarová, J., & Dubovický, M. (2008). Developmental origin of chronic diseases: toxicological implication. *Interdisciplinary Toxicology*, *1*(1), 29–31. <http://doi.org/10.2478/v10102-010-0029-8>
- Blažević, S., Dolenc, P., & Hranilović, D. (2011). Physiological consequences of perinatal treatment of rats with 5-hydroxytryptophan. *Periodicum Biologorum*, *113*(1), 81–86.
- Blažević, S., Jurčić, Ž., & Hranilović, D. (2010). Perinatal treatment. *Translational*

- Neuroscience*, 1(1), 49–54. <http://doi.org/10.2478/v10134-010-0006-y>
- Blier, P., Piñeyro, G., el Mansari, M., Bergeron, R., & de Montigny, C. (1998). Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 861, 204–216.
- Bloem, B., Poorthuis, R. B., & Mansvelter, H. D. (2014). Cholinergic modulation of the medial prefrontal cortex: the role of nicotinic receptors in attention and regulation of neuronal activity. *Frontiers in Neural Circuits*, 8, 17.  
<http://doi.org/10.3389/fncir.2014.00017>
- Bolivar, V. J., Walters, S. R., & Phoenix, J. L. (2007). Assessing autism-like behavior in mice: variations in social interactions among inbred strains. *Behavioural Brain Research*, 176(1), 21–26. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.09.007>
- Brailowsky, S. (1995). *Las sustancias de los sueños: neuropsicofarmacología*. Fondo De Cultura Economica USA.
- Bruin, J. P. C. de, Corner, M. A., Feenstra, M. G. P., Eden, C. G. V., & Uylings, H. B. M. (1991). *The Prefrontal Cortex: Its Structure, Function and Pathology: Its Structure, Function and Pathology*. Elsevier.
- Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (Eds.). (2007). *Goodman & Gilman: Las bases Farmacológicas de la Terapéutica* (11<sup>a</sup>. edition). Colombia: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V.
- Cai, X., Gu, Z., Zhong, P., Ren, Y., & Yan, Z. (2002). Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors regulate AMPA receptor channels through inhibiting Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II in prefrontal cortical pyramidal neurons. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(39), 36553–36562. <http://doi.org/10.1074/jbc.M203752200>

- Cannizzaro, C., Plescia, F., Gagliano, M., Cannizzaro, G., Provenzano, G., Mantia, G., & Cannizzaro, E. (2007). Effects of pre- and postnatal exposure to 5-methoxytryptamine and early handling on an object-place association learning task in adolescent rat offspring. *Neuroscience Research*, *59*(1), 74–80.  
<http://doi.org/10.1016/j.neures.2007.05.012>
- Carey, R. J. (2010). CHAPTER 3.2 - Serotonin and Basal Sensory–Motor Control. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 325–330). Elsevier. Retrieved from  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700874>
- Cases, O., Vitalis, T., Seif, I., De Maeyer, E., Sotelo, C., & Gaspar, P. (1996). Lack of barrels in the somatosensory cortex of monoamine oxidase A-deficient mice: role of a serotonin excess during the critical period. *Neuron*, *16*(2), 297–307.
- Cassel, J.-C. (2010). CHAPTER 3.9 - Experimental Studies on the Role(s) of Serotonin in Learning and Memory Functions. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 429–447). Elsevier. Retrieved from  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700941>
- Celada, P., Puig, M. V., & Artigas, F. (2013). Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, *7*, 25.  
<http://doi.org/10.3389/fnint.2013.00025>
- Clarke, H. F., Dalley, J. W., Crofts, H. S., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (2004). Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion. *Science (New York, N.Y.)*, *304*(5672), 878–880. <http://doi.org/10.1126/science.1094987>
- Clarke, H. F., Walker, S. C., Crofts, H. S., Dalley, J. W., Robbins, T. W., & Roberts, A. C.

- (2005). Prefrontal serotonin depletion affects reversal learning but not attentional set shifting. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(2), 532–538. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3690-04.2005>
- Clarke, H. F., Walker, S. C., Dalley, J. W., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (2007). Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion is behaviorally and neurochemically specific. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 17(1), 18–27. <http://doi.org/10.1093/cercor/bhj120>
- Cornea-Hébert, V., Riad, M., Wu, C., Singh, S. K., & Descarries, L. (1999). Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor in the central nervous system of adult rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 409(2), 187–209.
- Côté, F., Fligny, C., Bayard, E., Launay, J.-M., Gershon, M. D., Mallet, J., & Vodjdani, G. (2007). Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(1), 329–334. <http://doi.org/10.1073/pnas.0606722104>
- Crockett, M. J., Clark, L., Hauser, M. D., & Robbins, T. W. (2010). Serotonin selectively influences moral judgment and behavior through effects on harm aversion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(40), 17433–17438. <http://doi.org/10.1073/pnas.1009396107>
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(7), 771–784. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>
- Dalley, J. W., Theobald, D. E., Eagle, D. M., Passetti, F., & Robbins, T. W. (2002). Deficits

- in impulse control associated with tonically-elevated serotonergic function in rat prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 26(6), 716–728.  
[http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00412-2](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00412-2)
- Dash, P. K., Moore, A. N., Kobori, N., & Runyan, J. D. (2007). Molecular activity underlying working memory. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 14(8), 554–563. <http://doi.org/10.1101/lm.558707>
- Deets, A. C., Harlow, H. F., Singh, S. D., & Blomquist, A. J. (1970). Effects of bilateral lesions of the frontal granular cortex on the social behavior of rhesus monkeys. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 72(3), 452–461.
- DeFelipe, J., Arellano, J. I., Gómez, A., Azmitia, E. C., & Muñoz, A. (2001). Pyramidal cell axons show a local specialization for GABA and 5-HT inputs in monkey and human cerebral cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 433(1), 148–155.
- Dembrow, N., & Johnston, D. (2014). Subcircuit-specific neuromodulation in the prefrontal cortex. *Frontiers in Neural Circuits*, 8, 54. <http://doi.org/10.3389/fncir.2014.00054>
- De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A. P., Poultney, C. S., Samocha, K., Cicek, A. E., ... Buxbaum, J. D. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515(7526), 209–215. <http://doi.org/10.1038/nature13772>
- Dotdt, H. U., Frick, A., Kampe, K., & Zieglgänsberger, W. (1998). NMDA and AMPA receptors on neocortical neurons are differentially distributed. *The European Journal of Neuroscience*, 10(11), 3351–3357.
- Dulcy, C. P., Ganesh, A., & Rajan, E. (2010). Olfactory bulb serotonin level modulates olfactory recognition in the neonate rat. *Indian Journal of Experimental Biology*,

48(11), 1078–1082.

Duman, E. A., & Canli, T. (2010). CHAPTER 3.10 - Social Behavior and Serotonin. In C.

P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp.

449–456). Elsevier. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700953>

Eder, M., Becker, K., Rammes, G., Schierloh, A., Azad, S. C., Zieglgänsberger, W., & Dodt,

H.-U. (2003). Distribution and properties of functional postsynaptic kainate

receptors on neocortical layer V pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience:*

*The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(16), 6660–6670.

Ferguson, J. N., Insel, T. R., Young, L. J., & Aldag, J. M. (2001). Oxytocin in the medial

amygdala is essential for social recognition in the mouse. *The Journal of*

*Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(20), 8278–

8285.

Ferguson, J. N., Young, L. J., & Insel, T. R. (2002). The neuroendocrine basis of social

recognition. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 23(2), 200–224.

<http://doi.org/10.1006/frne.2002.0229>

Fletcher, M. L., & Chen, W. R. (2010). Neural correlates of olfactory learning: Critical role

of centrifugal neuromodulation. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*,

17(11), 561–570. <http://doi.org/10.1101/lm.941510>

Flores-Hernández, J., Cepeda, C., Hernández-Echeagaray, E., Calvert, C. R., Jokel, E. S.,

Fienberg, A. A., ... Levine, M. S. (2002). Dopamine enhancement of NMDA

currents in dissociated medium-sized striatal neurons: role of D1 receptors and

DARPP-32. *Journal of Neurophysiology*, 88(6), 3010–3020.

<http://doi.org/10.1152/jn.00361.2002>

Flores-Hernández, J., Hernandez, S., Snyder, G. L., Yan, Z., Fienberg, A. A., Moss, S. J., ...

Surmeier, D. J. (2000). D(1) dopamine receptor activation reduces GABA(A) receptor currents in neostriatal neurons through a PKA/DARPP-32/PP1 signaling cascade. *Journal of Neurophysiology*, *83*(5), 2996–3004.

Folstein, S., & Rutter, M. (1977). Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, *18*(4), 297–321.

Forbes, C. E., & Grafman, J. (2010). The role of the human prefrontal cortex in social cognition and moral judgment. *Annual Review of Neuroscience*, *33*, 299–324.

<http://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153230>

Fuster, J. (2008). *The Prefrontal Cortex* (4th edition). Amsterdam: Elsevier.

Gao, S., Guo, X., Liu, T., Liu, J., Chen, W., Xia, Q., ... Tang, Y. (2013). Serotonin modulates outward potassium currents in mouse olfactory receptor neurons.

*Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, *62*(4), 455–462.

Gaspar, P., Cases, O., & Maroteaux, L. (2003). The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nature Reviews. Neuroscience*, *4*(12), 1002–1012.

<http://doi.org/10.1038/nrn1256>

Gordon, I., Vander Wyk, B. C., Bennett, R. H., Cordeaux, C., Lucas, M. V., Eilbott, J.

A., ... Pelphrey, K. A. (2013). Oxytocin enhances brain function in children with autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(52), 20953–20958. <http://doi.org/10.1073/pnas.1312857110>

Green, J. J., & Hollander, E. (2010). Autism and oxytocin: new developments in

translational approaches to therapeutics. *Neurotherapeutics: The Journal of the*

*American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 7(3), 250–257.

<http://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.006>

Green, L., Fein, D., Modahl, C., Feinstein, C., Waterhouse, L., & Morris, M. (2001).

Oxytocin and autistic disorder: alterations in peptide forms. *Biological Psychiatry*, 50(8), 609–613.

Hall, I. C., Sell, G. L., & Hurley, L. M. (2011). Social regulation of serotonin in the auditory midbrain. *Behavioral Neuroscience*, 125(4), 501–511.

<http://doi.org/10.1037/a0024426>

Hardy, A., Palouzier-Paulignan, B., Duchamp, A., Royet, J.-P., & Duchamp-Viret, P.

(2005). 5-Hydroxytryptamine action in the rat olfactory bulb: in vitro electrophysiological patch-clamp recordings of juxtglomerular and mitral cells.

*Neuroscience*, 131(3), 717–731. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.10.034>

Heine, M., Ponimaskin, E., Bickmeyer, U., & Richter, D. W. (2002). 5-HT-receptor-

induced changes of the intracellular cAMP level monitored by a hyperpolarization-activated cation channel. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 443(3),

418–426. <http://doi.org/10.1007/s004240100690>

Hensler, J. G. (2010). CHAPTER 3.5 - Serotonin in Mood and Emotion. In C. P. M. and B.

L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 367–378).

Elsevier. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700904>

Hollander, E., Novotny, S., Hanratty, M., Yaffe, R., DeCaria, C. M., Aronowitz, B. R., &

Mosovich, S. (2003). Oxytocin infusion reduces repetitive behaviors in adults with autistic and Asperger's disorders. *Neuropsychopharmacology: Official Publication*

*of the American College of Neuropsychopharmacology*, 28(1), 193–198.

<http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300021>

Hollerman, J. R., Tremblay, L., & Schultz, W. (2000). Involvement of basal ganglia and orbitofrontal cortex in goal-directed behavior. *Progress in Brain Research*, 126, 193–215. [http://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26015-9](http://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26015-9)

Hornung, J.-P. (2003). The human raphe nuclei and the serotonergic system. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 331–343.

Hornung, J.-P. (2010). CHAPTER 1.3 - The Neuroanatomy of the Serotonergic System. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 51–64). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700710>

Hough, L., & Segal, S. (2015). Effects of Developmental Hyperserotonemia in the Rat Dentate Nucleus Neuronal Morphology. *The FASEB Journal*, 29(1 Supplement), 214.4.

Hranilovic, D., Blazevic, S., Ivica, N., Cicin-Sain, L., & Oreskovic, D. (2011). The effects of the perinatal treatment with 5-hydroxytryptophan or tranylcypromine on the peripheral and central serotonin homeostasis in adult rats. *Neurochemistry International*, 59(2), 202–207. <http://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.05.003>

Insel, T. R., & Winslow, J. T. (1998). Serotonin and neuropeptides in affiliative behaviors. *Biological Psychiatry*, 44(3), 207–219.

Jakab, R. L., & Goldman-Rakic, P. S. (1998). 5-Hydroxytryptamine<sub>2A</sub> serotonin receptors in the primate cerebral cortex: possible site of action of hallucinogenic and antipsychotic drugs in pyramidal cell apical dendrites. *Proceedings of the National*

*Academy of Sciences of the United States of America*, 95(2), 735–740.

Janusonis, S., Gluncic, V., & Rakic, P. (2004). Early serotonergic projections to Cajal-Retzus cells: relevance for cortical development. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(7), 1652–1659.  
<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4651-03.2004>

Jenkins, L. M., Andrewes, D. G., Nicholas, C. L., Drummond, K. J., Moffat, B. A., Phal, P., ... Kessels, R. P. C. (2014). Social cognition in patients following surgery to the prefrontal cortex. *Psychiatry Research*, 224(3), 192–203.  
<http://doi.org/10.1016/j.psychresns.2014.08.007>

Jones, K. A., Srivastava, D. P., Allen, J. A., Strachan, R. T., Roth, B. L., & Penzes, P. (2009). Rapid modulation of spine morphology by the 5-HT<sub>2A</sub> serotonin receptor through kalirin-7 signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(46), 19575–19580.  
<http://doi.org/10.1073/pnas.0905884106>

Jørgensen, H., Kjaer, A., Knigge, U., Møller, M., & Warberg, J. (2003). Serotonin stimulates hypothalamic mRNA expression and local release of neurohypophysial peptides. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(6), 564–571.

Kahne, D., Tudorica, A., Borella, A., Shapiro, L., Johnstone, F., Huang, W., & Whitaker-Azmitia, P. M. (2002). Behavioral and magnetic resonance spectroscopic studies in the rat hyperserotonemic model of autism. *Physiology & Behavior*, 75(3), 403–410.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (Eds.). (2012). *Principles of Neural Science, Fifth Edition* (5th edition). New York: McGraw-Hill Professional.

- Kask, A., Nguyen, H. P., Pabst, R., & von Hörsten, S. (2001). Factors influencing behavior of group-housed male rats in the social interaction test: focus on cohort removal. *Physiology & Behavior, 74*(3), 277–282.
- Kiser, D., Steemers, B., Branchi, I., & Homberg, J. R. (2012). The reciprocal interaction between serotonin and social behaviour. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 36*(2), 786–798. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.12.009>
- Kolb, B. (1974). Social behavior of rats with chronic prefrontal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 87*(3), 466–474. <http://doi.org/10.1037/h0036969>
- Lauder, J. M., Liu, J., & Grayson, D. R. (2000). In utero exposure to serotonergic drugs alters neonatal expression of 5-HT(1A) receptor transcripts: a quantitative RT-PCR study. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience, 18*(2-3), 171–176.
- Lee, M. D., & Clifton, P. G. (2010). CHAPTER 3.3 - Role of the Serotonergic System in Appetite and Ingestion Control. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 331–345). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700886>
- Lee, P. R., Brady, D. L., Shapiro, R. A., Dorsa, D. M., & Koenig, J. I. (2005). Social interaction deficits caused by chronic phencyclidine administration are reversed by oxytocin. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology, 30*(10), 1883–1894. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300722>
- Leiser, S. C., Li, Y., Pehrson, A. L., Dale, E., Smagin, G., & Sanchez, C. (2015).

- Serotonergic Regulation of Prefrontal Cortical Circuitries Involved in Cognitive Processing: A Review of Individual 5-HT Receptor Mechanisms and Concerted Effects of 5-HT Receptors Exemplified by the Multimodal Antidepressant Vortioxetine. *ACS Chemical Neuroscience*. <http://doi.org/10.1021/cn500340j>
- Letty, S., Child, R., Dumuis, A., Pantaloni, A., Bockaert, J., & Rondouin, G. (1997). 5-HT<sub>4</sub> receptors improve social olfactory memory in the rat. *Neuropharmacology*, *36*(4-5), 681–687.
- Liu, S., Aungst, J. L., Puche, A. C., & Shipley, M. T. (2012). Serotonin modulates the population activity profile of olfactory bulb external tufted cells. *Journal of Neurophysiology*, *107*(1), 473–483. <http://doi.org/10.1152/jn.00741.2011>
- LoParo, D., & Waldman, I. D. (2015). The oxytocin receptor gene (OXTR) is associated with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, *20*(5), 640–646. <http://doi.org/10.1038/mp.2014.77>
- Lowry, C. A., & Hale, M. W. (2010). CHAPTER 3.6 - Serotonin and the Neurobiology of Anxious States. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 379–397). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700916>
- Madden, A. M. K., & Zup, S. L. (2014). Effects of developmental hyperserotonemia on juvenile play behavior, oxytocin and serotonin receptor expression in the hypothalamus are age and sex dependent. *Physiology & Behavior*, *128*, 260–269. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.01.036>
- Marek, G. J. (2010). CHAPTER 2.2 - Electrophysiology of Serotonin Receptors. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 163–

182). Elsevier. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700771>

Martin, M. M., Liu, Y., & Wang, Z. (2012). Developmental exposure to a serotonin agonist produces subsequent behavioral and neurochemical changes in the adult male prairie vole. *Physiology & Behavior*, *105*(2), 529–535.

<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.09.015>

Martín-Ruiz, R., Puig, M. V., Celada, P., Shapiro, D. A., Roth, B. L., Mengod, G., & Artigas, F. (2001). Control of serotonergic function in medial prefrontal cortex by serotonin-2A receptors through a glutamate-dependent mechanism. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(24), 9856–9866.

McBride, W. J. (2010). CHAPTER 3.7 - Role of Serotonin in Brain Reward and Regulation of Alcohol Drinking Behavior. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 399–414). Elsevier. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700928>

McLean, J. H., Darby-King, A., & Hodge, E. (1996). 5-HT<sub>2</sub> receptor involvement in conditioned olfactory learning in the neonate rat pup. *Behavioral Neuroscience*, *110*(6), 1426–1434.

McLean, J. H., Darby-King, A., Sullivan, R. M., & King, S. R. (1993). Serotonergic influence on olfactory learning in the neonate rat. *Behavioral and Neural Biology*, *60*(2), 152–162.

McLean, J. H., & Shipley, M. T. (1987a). Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: II. Changes in fiber distribution during development. *The Journal of Neuroscience:*

*The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(10), 3029–3039.

McLean, J. H., & Shipley, M. T. (1987b). Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: I. Origins and laminar specificity of serotonergic inputs in the adult rat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(10), 3016–3028.

McNamara, I. M., Borella, A. W., Bialowas, L. A., & Whitaker-Azmitia, P. M. (2008). Further studies in the developmental hyperserotonemia model (DHS) of autism: social, behavioral and peptide changes. *Brain Research*, 1189, 203–214.  
<http://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.10.063>

Mengod, G., Cortés, R., Vilaró, M. T., & Hoyer, D. (2010). CHAPTER 1.6 - Distribution of 5-HT Receptors in the Central Nervous System. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 123–138). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700746>

Miceli, S., Negwer, M., van Eijs, F., Kalkhoven, C., van Lierop, I., Homberg, J., & Schubert, D. (2013). High serotonin levels during brain development alter the structural input-output connectivity of neural networks in the rat somatosensory layer IV. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7, 88.  
<http://doi.org/10.3389/fncel.2013.00088>

Miller, E. K. (1999). The prefrontal cortex: complex neural properties for complex behavior. *Neuron*, 22(1), 15–17.

Miller, E. K., & Cohen, J. D. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 167–202.  
<http://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.167>

- Miller, E. K., & Wallis, J. D. (2013). Chapter 50 - The Prefrontal Cortex and Executive Brain Functions. In L. R. S. B. E. B. du L. G. C. Spitzer (Ed.), *Fundamental Neuroscience (Fourth Edition)* (pp. 1069–1089). San Diego: Academic Press.  
Retrieved from  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123858702000500>
- Milne, E., & Grafman, J. (2001). Ventromedial prefrontal cortex lesions in humans eliminate implicit gender stereotyping. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(12), RC150.
- Modahl, C., Green, L., Fein, D., Morris, M., Waterhouse, L., Feinstein, C., & Levin, H. (1998). Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biological Psychiatry*, *43*(4), 270–277.
- Mori, H., & Mishina, M. (1995). Structure and function of the NMDA receptor channel. *Neuropharmacology*, *34*(10), 1219–1237.
- Moriizumi, T., Tsukatani, T., Sakashita, H., & Miwa, T. (1994). Olfactory disturbance induced by deafferentation of serotonergic fibers in the olfactory bulb. *Neuroscience*, *61*(4), 733–738.
- Morley, K. C., Arnold, J. C., & McGregor, I. S. (2005). Serotonin (1A) receptor involvement in acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) facilitation of social interaction in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *29*(5), 648–657. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.04.009>
- Moskowitz, D. S., Pinard, G., Zuroff, D. C., Annable, L., & Young, S. N. (2003). Tryptophan, serotonin and human social behavior. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *527*, 215–224.

- Mulder, E. J. (2006). *The hyperserotonemia of autism spectrum disorders* (Doctoral Thesis). University of Groningen.
- Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, *108*(5), 1614–1641. <http://doi.org/10.1021/cr078224o>
- Oberlander, T. F. (2012). Fetal serotonin signaling: setting pathways for early childhood development and behavior. *The Journal of Adolescent Health: Official Publication of the Society for Adolescent Medicine*, *51*(2 Suppl), S9–16. <http://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2012.04.009>
- Oca, A. B. M. de, Gutiérrez, G. M., & Rodríguez, J. H. (2013). Molecular signaling of 5-HT1A and presence of serotonergic cells in the fetal cerebral cortex. *World Journal of Neuroscience*, *3*(2), 76–82. <http://doi.org/10.4236/wjns.2013.32011>
- Oland, L. A., & Tolbert, L. P. (1996). Multiple factors shape development of olfactory glomeruli: insights from an insect model system. *Journal of Neurobiology*, *30*(1), 92–109. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4695\(199605\)30:1<92::AID-NEU9>3.0.CO;2-B](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4695(199605)30:1<92::AID-NEU9>3.0.CO;2-B)
- Park, S. B., Coull, J. T., McShane, R. H., Young, A. H., Sahakian, B. J., Robbins, T. W., & Cowen, P. J. (1994). Tryptophan depletion in normal volunteers produces selective impairments in learning and memory. *Neuropharmacology*, *33*(3-4), 575–588.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Incorporated.
- Peroutka, S. J., & Snyder, S. H. (1979). Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. *Molecular Pharmacology*, *16*(3), 687–699.

- Petzold, G. C., Hagiwara, A., & Murthy, V. N. (2009). Serotonergic modulation of odor input to the mammalian olfactory bulb. *Nature Neuroscience*, *12*(6), 784–791.  
<http://doi.org/10.1038/nn.2335>
- Pompeiano, M., Palacios, J. M., & Mengod, G. (1992). Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *12*(2), 440–453.
- Ponimaskin, E. G., Heine, M., Zeug, A., Voyno-Yasenetskaya, T., & Salonikidis, P. S. (2007). Chapter 2 - Monitoring Receptor-Mediated Changes of Intracellular cAMP Level by Using Ion Channels and Fluorescent Proteins as Biosensors. In A. Chattopadhyay (Ed.), *Serotonin Receptors in Neurobiology*. Boca Raton (FL): CRC Press. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5210/>
- Poorthuis, R. B., Bloem, B., Schak, B., Wester, J., de Kock, C. P. J., & Mansvelder, H. D. (2013). Layer-specific modulation of the prefrontal cortex by nicotinic acetylcholine receptors. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *23*(1), 148–161.  
<http://doi.org/10.1093/cercor/bhr390>
- Poorthuis, R. B., & Mansvelder, H. D. (2013). Nicotinic acetylcholine receptors controlling attention: behavior, circuits and sensitivity to disruption by nicotine. *Biochemical Pharmacology*, *86*(8), 1089–1098. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.07.003>
- Puig, M. V. (2011). Serotonergic Modulation of the Prefrontal Cortex: From Neurons to Brain Waves. In T. Uehara (Ed.), *Psychiatric Disorders - Worldwide Advances*. InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/psychiatric-disorders-worldwide-advances/serotonergic-modulation-of-the-prefrontal-cortex-from->

neurons-to-brain-waves

- Puig, M. V., Celada, P., & Artigas, F. (2004). Serotonergic control of prefrontal cortex. *Revista de neurologia*, *39*(6), 539–547.
- Puig, M. V., & Gullledge, A. T. (2011). Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular Neurobiology*, *44*(3), 449–464.  
<http://doi.org/10.1007/s12035-011-8214-0>
- Riad, M., Garcia, S., Watkins, K. C., Jodoin, N., Doucet, E., Langlois, X., ... Descarries, L. (2000). Somatodendritic localization of 5-HT1A and preterminal axonal localization of 5-HT1B serotonin receptors in adult rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, *417*(2), 181–194.
- Robbins, T. W., & Crockett, M. J. (2010). CHAPTER 3.8 - Role of Central Serotonin in Impulsivity and Compulsivity: Comparative Studies in Experimental Animals and Humans. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 415–427). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S156973391070093X>
- Rogers, R. D., Blackshaw, A. J., Middleton, H. C., Matthews, K., Hawtin, K., Crowley, C., ... Robbins, T. W. (1999). Tryptophan depletion impairs stimulus-reward learning while methylphenidate disrupts attentional control in healthy young adults: implications for the monoaminergic basis of impulsive behaviour. *Psychopharmacology*, *146*(4), 482–491.
- Rogers, R. D., Owen, A. M., Middleton, H. C., Williams, E. J., Pickard, J. D., Sahakian, B. J., & Robbins, T. W. (1999). Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *The Journal of*

*Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(20), 9029–9038.

Rossetti, Z. L., & Carboni, S. (2005). Noradrenaline and dopamine elevations in the rat prefrontal cortex in spatial working memory. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(9), 2322–2329.

<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3038-04.2005>

Sanders, S. J., Murtha, M. T., Gupta, A. R., Murdoch, J. D., Raubeson, M. J., Willsey, A. J., ... State, M. W. (2012). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 485(7397), 237–241.

<http://doi.org/10.1038/nature10945>

Santana Ramos, N. (2007, October 9). *Receptores Monoaminérgicos en Corteza Prefrontal: Mecanismo de Acción de Fármacos Antipsicóticos* (info:eu-repo/semantics/doctoralThesis). Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/893>

Sawaguchi, T., Matsumura, M., & Kubota, K. (1986). Dopamine modulates neuronal activities related to motor performance in the monkey prefrontal cortex. *Brain Research*, 371(2), 404–408.

Schain, R. J., & Freedman, D. X. (1961). Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. *The Journal of Pediatrics*, 58, 315–320.

Schneider, M., & Koch, M. (2005). Deficient social and play behavior in juvenile and adult rats after neonatal cortical lesion: effects of chronic pubertal cannabinoid treatment.

*Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of*

- Neuropsychopharmacology*, 30(5), 944–957. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300634>
- Schultz, W., Dayan, P., & Montague, P. R. (1997). A neural substrate of prediction and reward. *Science (New York, N.Y.)*, 275(5306), 1593–1599.
- Schultz, W., Tremblay, L., & Hollerman, J. R. (2000). Reward processing in primate orbitofrontal cortex and basal ganglia. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 10(3), 272–284.
- Seamans, J. K., & Yang, C. R. (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in Neurobiology*, 74(1), 1–58.  
<http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.05.006>
- Shemer, A. V., Azmitia, E. C., & Whitaker-Azmitia, P. M. (1991). Dose-related effects of prenatal 5-methoxytryptamine (5-MT) on development of serotonin terminal density and behavior. *Developmental Brain Research*, 59(1), 59–63.  
[http://doi.org/10.1016/0165-3806\(91\)90029-I](http://doi.org/10.1016/0165-3806(91)90029-I)
- Shemer, A., Whitaker-Azmitia, P. M., & Azmitia, E. C. (1988). Effects of prenatal 5-methoxytryptamine and parachlorophenylalanine on serotonergic uptake and behavior in the neonatal rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 30(4), 847–851.
- Silverman, J. L., Yang, M., Lord, C., & Crawley, J. N. (2010). Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(7), 490–502.  
<http://doi.org/10.1038/nrn2851>
- Sommer, C. (2010). CHAPTER 3.11 - Serotonin in Pain and Pain Control. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 457–471). Elsevier. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700965>

Sullivan, J. M., Benton, J. L., & Beltz, B. S. (2000). Serotonin depletion in vivo inhibits the branching of olfactory projection neurons in the lobster deutocerebrum. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(20), 7716–7721.

Surmeier, D. J., Song, W. J., & Yan, Z. (1996). Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(20), 6579–6591.

Uphouse, L., & Guptarak, J. (2010). CHAPTER 3.4 - Serotonin and Sexual Behavior. In C. P. M. and B. L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, pp. 347–365). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700898>

Uylings, H. B. M., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146(1-2), 3–17.

Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 51(1), 32–58. <http://doi.org/10.1002/syn.10279>

Vyklicky, V., Korinek, M., Smejkalova, T., Balik, A., Krausova, B., Kaniakova, M., ... Vyklicky, L. (2014). Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 63 Suppl 1, S191–203.

Wedzony, K., Chocyk, A., & Maćkowiak, M. (2008). A search for colocalization of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the rat medial prefrontal and entorhinal cortices--immunohistochemical studies. *Journal of Physiology and Pharmacology:*

- An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 59(2), 229–238.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2001). Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Research Bulletin*, 56(5), 479–485.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2005). Behavioral and cellular consequences of increasing serotonergic activity during brain development: a role in autism? *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 23(1), 75–83.  
<http://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2004.07.022>
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2010). CHAPTER 3.1 - Serotonin and Development. In Christian P. Müller and Barry L. Jacobs (Ed.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. Volume 21, pp. 309–323). Elsevier. Retrieved from  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569733910700862>
- Whitaker-Azmitia, P. M., & Azmitia, E. C. (1986). Autoregulation of fetal serotonergic neuronal development: role of high affinity serotonin receptors. *Neuroscience Letters*, 67(3), 307–312.
- Whitaker-Azmitia, P. M., Lauder, J. M., Shemmer, A., & Azmitia, E. C. (1987). Postnatal changes in serotonin receptors following prenatal alterations in serotonin levels: further evidence for functional fetal serotonin receptors. *Brain Research*, 430(2), 285–289.
- Winslow, J. T., & Insel, T. R. (2002). The social deficits of the oxytocin knockout mouse. *Neuropeptides*, 36(2-3), 221–229.
- Wollmuth, L. P., & Sobolevsky, A. I. (2004). Structure and gating of the glutamate receptor ion channel. *Trends in Neurosciences*, 27(6), 321–328.

<http://doi.org/10.1016/j.tins.2004.04.005>

- Yang, M., Clarke, A. M., & Crawley, J. N. (2009). Postnatal lesion evidence against a primary role for the corpus callosum in mouse sociability. *The European Journal of Neuroscience*, *29*(8), 1663–1677. <http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06714.x>
- Yang, Y., & Raine, A. (2009). Prefrontal structural and functional brain imaging findings in antisocial, violent, and psychopathic individuals: a meta-analysis. *Psychiatry Research*, *174*(2), 81–88. <http://doi.org/10.1016/j.psychresns.2009.03.012>
- Yoshida, H., Kanamaru, C., Ohtani, A., Li, F., Senzaki, K., & Shiga, T. (2011). Subtype specific roles of serotonin receptors in the spine formation of cortical neurons in vitro. *Neuroscience Research*, *71*(3), 311–314.  
<http://doi.org/10.1016/j.neures.2011.07.1824>
- Yuen, E. Y., Jiang, Q., Chen, P., Feng, J., & Yan, Z. (2008). Activation of 5-HT<sub>2A/C</sub> receptors counteracts 5-HT<sub>1A</sub> regulation of n-methyl-D-aspartate receptor channels in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *The Journal of Biological Chemistry*, *283*(25), 17194–17204. <http://doi.org/10.1074/jbc.M801713200>
- Yuen, E. Y., Jiang, Q., Chen, P., Gu, Z., Feng, J., & Yan, Z. (2005). Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors regulate NMDA receptor channels through a microtubule-dependent mechanism. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *25*(23), 5488–5501. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1187-05.2005>
- Zhang, J., Dennis, K. A., Darling, R. D., Alzghoul, L., Paul, I. A., Simpson, K. L., & Lin, R. C. S. (2013). Neonatal citalopram exposure decreases serotonergic fiber density in the olfactory bulb of male but not female adult rats. *Frontiers in Cellular*

*Neuroscience*, 7, 67. <http://doi.org/10.3389/fncel.2013.00067>

Zhang, Z., Cordeiro Matos, S., Jego, S., Adamantidis, A., & Séguéla, P. (2013).

Norepinephrine drives persistent activity in prefrontal cortex via synergistic  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  adrenoceptors. *PloS One*, 8(6), e66122.

<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0066122>

Zhong, P., Yuen, E. Y., & Yan, Z. (2008). Modulation of neuronal excitability by serotonin-

NMDA interactions in prefrontal cortex. *Molecular and Cellular Neurosciences*,

38(2), 290–299. <http://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.03.003>