



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Receptores Monoaminérgicos en Corteza Prefrontal: Mecanismo de Acción de Fármacos Antipsicóticos

Tesis Doctoral presentada por

Noemí Santana Ramos

Barcelona, julio de 2007

**TRABAJO PRESENTADO PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN
BIOQUÍMICA POR LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA, PROGRAMA DE
DOCTORADO DE NEUROCIENCIAS (Departamento de Biología Celular y
Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona)**

**DEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA (IIBB)
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)**

Los directores:

**Dr. Francesc Artigas Pérez
Profesor de Investigación del CSIC**

**Dra. Guadalupe Mengod Los Arcos
Profesor de Investigación del CSIC**

**Firmado: Noemí Santana Ramos
Barcelona, julio 2006**

El presente trabajo ha sido financiado con los siguientes proyectos:

1. Control de la actividad de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas por la corteza prefrontal. Modulación por fármacos antidepresivos. CICYT SAF 2001-2133.
2. Nuevas estrategias terapéuticas en el trastorno depresivo mayor. Fundació La Marató de TV3.
3. Papel de la corteza prefrontal en la patofisiología de la esquizofrenia y acción terapéutica de fármacos antipsicóticos. CICYT (SAF2004-05525).

Y ha sido realizado con la ayuda de las siguientes becas predoctorales

”Beca de Formación de Personal Investigador, Ministerio de Educación y Ciencia”

“Beca predoctoral de la fundación Institut d’ Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS)”.

A mis padres
A mi hermano

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. LA CORTEZA PREFRONTAL	1
1.1. Localización y definición	1
1.2. Función	2
1.3. Arquitectura	4
1.4. Tipos celulares	6
1.5. Organización funcional	10
1.6. Conectividad	12
2. FUNCIÓN DE LAS MONOAMINAS EN LA CORTEZA PREFRONTAL	14
2.1. Serotonina	15
2.1.1. <i>Inervación de la CPF por serotonina</i>	15
2.1.2. <i>Receptores serotoninérgicos en CPF</i>	15
2.2. Dopamina	18
2.2.1. <i>Inervación de la CPF por dopamina</i>	18
2.2.2. <i>Receptores dopaminérgicos en CPF</i>	19
2.2.3. <i>Funcionalidad de la dopamina</i>	20
2.3. Noradrenalina	23
2.3.1. <i>Inervación de la CPF por noradrenalina</i>	23
2.3.2. <i>Receptores noradrenérgicos en CPF</i>	24
3. ESQUIZOFRENIA	25
3.1. Etiología	25
3.2. Fisiopatología y modelos animales de esquizofrenia	27
3.2.1. <i>Hipótesis dopaminérgica</i>	27
3.2.2. <i>Hipótesis serotoninérgica</i>	28
3.2.3. <i>Hipótesis glutamatérgica</i>	28
3.2.4. <i>Hipótesis GABAérgica</i>	30
3.2.5. <i>Hipótesis del neurodesarrollo</i>	30
3.3. Farmacología	31

II. OBJETIVOS **35**

III. MATERIALES Y MÉTODOS **39**

1. OBTENCIÓN DE LOS TEJIDOS.....39

1.1. Tratamiento farmacológico de los animales.....39

1.2. Preparación del tejido.....39

2. HIBRIDACION IN SITU40

2.1. Sondas de hibridación40

2.2. Protocolo de hibridación.....42

2.2.1. Marcaje de las sondas radiactivas.....42

2.2.2. Marcaje de las sondas no radiactivas.....42

2.2.3. Purificación de las sondas marcadas.....42

2.2.4. Fijación del tejido.....42

2.2.5. Hibridación del tejido.....42

2.2.6. Lavado.....43

2.2.7. Obtención de la señal.....43

2.2.8. Controles de especificidad.....44

2.3. Análisis de resultados.....45

2.3.1. Cuantificación de la colocalización de receptores y c-fos con células glutamatérgicas y GABAérgicas.....45

2.3.2. Determinación de las densidades ópticas relativas de los autorradiogramas.....45

2.3.3. Análisis estadístico45

2.3.4. Preparación de las imágenes.....45

3. TINCIONES HISTOLÓGICAS46

4. CONSTRUCCION DE PLASMIDOS PARA LA TRANSFECCION46

5. CULTIVOS CELULARES46

6. CO-INMUNOPRECIPITACION	47
6.1. Preparación de la muestra	47
6.2. Electroforesis en Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE) y Western Blot.	47
7. FRET	48
7.1. Análisis de los resultados	49
7.2. Determinación de los coeficientes de bleedthrough	49
7.3. Corrección y normalización de la señal de FRET	49
7.4. Controles	50

IV. RESULTADOS **55**

Trabajo 1	55
Expression of Serotonin1A and Serotonin2A Receptors in Pyramidal and GABAergic Neurons of the Rat Prefrontal Cortex	
Trabajo 2	67
In Vivo Excitation of GABA Interneurons in the Medial Prefrontal Cortex through 5-HT ₃ Receptors	
Trabajo 3	81
Antipsychotic drugs reverse the disruption in prefrontal cortex function produced by NMDA receptor blockade with phencyclidine	
Trabajo 4	95
Cellular convergence of serotonergic and noradrenergic signals in rat prefrontal cortex through 5-HT _{2A} / α_1 -adrenergic receptor heterodimers.	
Trabajo 5	119

Quantitative Analysis of the Expression of Dopamine D₁ and D₂ Receptors in Pyramidal and GABAergic Neurons of the Rat Prefrontal Cortex.

Trabajo 6	141
The NMDA receptor antagonist phencyclidine activates the expression of <i>c-fos</i> in thalamo-cortical circuits. Reversal by clozapine	

V. DISCUSIÓN	161
---------------------	------------

VI. CONCLUSIONES	173
-------------------------	------------

VII. BIBLIOGRAFIA	177
--------------------------	------------

ABREVIATURAS

5-HT	serotonina
AAT	antipsicóticos atípicos
ACAAd/Cg	Corteza cingulada
ADN	Acido desoxiribonucleico
AID	Corteza agranular insular, dorsal
AIV	Corteza agranular insular, ventral
AOM	Núcleo olfativo anterior, medial
AOV	Núcleo olfativo anterior, ventral
APTS	Aminopropiltriétoxosilano
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AT	antipsicóticos típicos
ATV	Area tegmental ventral
CB	Calbindina
cc	cuerpo caloso
CCK	Colecistoquinina
CLZ	Clozapina
CM	Núcleo centromedial del tálamo
COMT	Catecol-o-metiltransferasa
CPF	Corteza prefrontal
CR	Proteína de unión a calcio calretinina
DA	Dopamina
DBH	dopamina-beta-hidroxilasa
Dig	Digoxigenina
DISC1 y DISC2	alterado-en-esquizofrenia 1 y 2, respectivamente
DOI	1-(2,5-dimetoxi-4-yodofenil)-2-aminopropano
DTNBP1	disbindina
GABA	Acido gamma-aminobutírico
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IL	Corteza infralímbica
LC	Locus coeruleus
LO	Corteza orbital lateral
LSD	Dietilamida de ácido d-lisérgico
MD	Núcleo mediodorsal del tálamo
MFB	medial forebrain bundle
MOs	Corteza motora secundaria
NA	Noradrenalina
NDR	Núcleo dorsal del rafe
NMDA	N-metil-D-aspartato
NR	Núcleos del rafe
NRG1	Neuregulina 1
PCP	Fenciclidina
PL	Corteza prelímbica
PPI	inhibición prepulso
PV	Parvalbúmina
RD	Rafe dorsal
SN	Substantia nigra
SS	Somatostatina
VIP	Péptido intestinal vasoactivo