



**CONTROL RECÍPROCO ENTRE LA CORTEZA  
PREFRONTAL Y LOS NÚCLEOS DEL RAPE.  
PAPEL DE LOS RECEPTORES DE  
SEROTONINA**

**Tesis Doctoral presentada por  
M. Victoria Puig Velasco  
Barcelona, Abril de 2004**

**TRABAJO PRESENTADO PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR POR LA  
UNIVERSIDAD DE BARCELONA**

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

**LOS DIRECTORES DE TESIS:**

**Dra. M<sup>a</sup> de la Paz Celada Pedrosa**

**Dr. Francesc Artigas Pérez**

Los hombres deberían saber que del cerebro, y nada más que del cerebro, vienen las alegrías, el placer, la risa y la diversión, las penas, el dolor, el abatimiento y las lamentaciones. Y gracias al cerebro, de manera especial, adquirimos sabiduría y conocimientos, y vemos, oímos y sabemos lo que es repugnante y lo que es bello, lo que es malo y lo que es bueno, lo que es dulce y lo que es insípido... Y gracias a este órgano nos volvemos locos y deliramos, y los miedos y terrores nos asaltan... Debemos soportar todo esto cuando el cerebro no está sano... Y en este sentido soy de la opinión de que esta víscera ejerce en el ser humano el mayor poder.

Hipócrates, *Sobre las enfermedades sagradas* (460-470 a.C.)

La consciencia está asociada a ciertas actividades neuronales. Un modelo plausible podría comenzar con la idea de que esta actividad está fundamentalmente en la capa cortical inferior (capas V y VI). [...] El tipo más probable es el de las células piramidales grandes “explosivas” de la capa 5, las que se proyectan directamente fuera del sistema cortical.

Esta actividad de capas inferiores no alcanzará la consciencia a menos que esté sostenida por alguna forma de memoria a muy corto plazo. Es plausible que esto necesite un circuito reverberador efectivo desde la capa cortical 6 hasta el tálamo, y viceversa hasta las capas corticales 4 y 6. Si falta esto, o si la capa 4 es demasiado pequeña, puede que no sea posible sostener esas reverberaciones. Por este motivo, sólo algunas áreas corticales expresarán consciencia.

Francis Crick, *La búsqueda científica del alma* (p.314)

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
<b>2. LA CORTEZA PREFRONTAL</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Citoarquitectura de la corteza prefrontal e implicación en funciones cerebrales superiores</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Conectividad</b>	<b>6</b>
2.2.1 Aferencias tálamo-corticales	8
2.2.2 Conectividad con los núcleos aminérgicos del mesencéfalo	9
<b>2.3 Neuroanatomía química</b>	<b>11</b>
<b>2.4 Patrón de descarga de las neuronas corticales</b>	<b>13</b>
<b>3. EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Funciones fisiológicas de los núcleos del rafe</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Neuroanatomía química</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Conectividad de los núcleos del rafe</b>	<b>18</b>
3.3.1 Aferencias	18
3.3.2 Eferencias	20
<b>3.4 La neurona serotoninérgica</b>	<b>21</b>
3.4.1 Fisiología	22
3.4.2 Aspectos presinápticos	25

<b>3.5</b>	<b>Receptores de serotonina</b> .....	<b>27</b>
	3.5.1 Receptores serotoninérgicos en la corteza prefrontal medial .....	32
<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>39</b>
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>43</b>
<b>1.</b>	<b>MATERIALES</b> .....	<b>43</b>
	<b>1.1</b> Animales de experimentación .....	43
	<b>1.2</b> Fármacos utilizados .....	43
<b>2.</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>44</b>
	<b>2.1</b> Microdiálisis en rata consciente o anestesiada .....	44
	2.1.1 Fabricación e implante de sondas .....	44
	2.1.2 Obtención de muestras por diálisis .....	45
	2.1.3 Administración de fármacos .....	46
	2.1.4 Análisis de las muestras .....	47
	2.1.5 Verificación histológica .....	47
	2.1.6 Análisis estadístico .....	47
	<b>2.2</b> Electrofisiología en rata y ratón anestesiados .....	48
	2.2.1 Anestesia .....	48
	2.2.2 Preparación de los animales para estereotaxia .....	48
	2.2.3 Preparación de electrodos .....	49
	2.2.3.1 <i>De registro</i> .....	49
	2.2.3.2 <i>De estimulación</i> .....	49

2.2.4	Fabricación de cánulas y sondas para la administración	
	local de fármacos .....	50
	2.2.4.1 <i>Preparación de cánulas</i> .....	50
	2.2.4.2 <i>Preparación de sondas para electrofisiología</i> .....	50
2.2.5	Registro uni-extracelular .....	51
	2.2.5.1 <i>Características del laboratorio</i> .....	51
	2.2.5.2 <i>Registro de neuronas serotoninérgicas</i>	
	<i>del núcleo dorsal rafe</i> .....	52
	2.2.5.3 <i>Registro de neuronas piramidales y</i>	
	<i>GABAérgicas de la corteza prefrontal medial (CPFm) y</i>	
	<i>corteza motora secundaria (MOs)</i> .....	54
2.2.6	Tratamientos con p-clorofenilalanina (PCPA) .....	55
2.2.7	Verificación histológica .....	56
2.2.8	Tratamiento de datos y análisis estadístico .....	56
	2.2.8.1 <i>Representación de los resultados</i> .....	56
	2.2.8.2 <i>Análisis estadístico de los resultados</i> .....	59
<b>2.3</b>	<b>Lesiones del tálamo</b> .....	<b>60</b>

**Trabajo 1** ..... 65**Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: Involvement of serotonin<sub>1A</sub>, GABA<sub>A</sub>, and glutamate receptors.**

Pau Celada, M. Victoria Puig, Josep M. Casanovas, Gemma Guillazo y Francesc Artigas (2001)

*The Journal of Neuroscience* 21: 9917-9929

**Trabajo 2** ..... 81**Control of serotonergic function in medial prefrontal cortex by serotonin-<sub>2A</sub> receptors through a glutamate-dependent mechanism.**

Raúl Martín-Ruiz\*, M. Victoria Puig\*, Pau Celada, David A. Shapiro, Bryan L. Roth, Guadalupe Mengod y Francesc Artigas (2001)

*The Journal of Neuroscience* 21: 9856-9866 (\*primeros autores)

**Trabajo 3** ..... 95***In vivo* modulation of the activity of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex by 5-HT<sub>2A</sub> receptors: Relationship to thalamocortical afferents.**

M. Victoria Puig, Pau Celada, Llorenç Díaz-Mataix y Francesc Artigas (2003)

*Cerebral Cortex* 13:870-882.

**Trabajo 4** ..... 111**Co-expression and *in vivo* interaction of serotonin<sub>1A</sub> and serotonin<sub>2A</sub> receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex**

Mercè Amargós-Bosch\*, Analía Bortolozzi\*, M. Victoria Puig\*, Jordi Serrats, Albert Adell, Pau Celada, Miklos Toth, Guadalupe Mengod y Francesc Artigas (2004)

*Cerebral Cortex* 14:281-299 (\*primeros autores).

**Trabajo 5** ..... 133**Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation *in vivo*: Involvement of serotonin and GABA**

M. Victoria Puig, Francesc Artigas y Pau Celada.

*Cerebral cortex* (en prensa)

<b>Trabajo 6</b> .....	157
------------------------	-----

***In vivo* excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT<sub>3</sub> receptors.**

M. Victoria Puig\*, Noemí Santana\*, Pau Celada, Guadalupe Mengod y Francesc Artigas (2004)

*Cerebral cortex* (en prensa) (\*primeros autores)

<b>TRABAJOS ANEXOS</b> .....	175
------------------------------	-----

<b>Trabajo 7</b> .....	177
------------------------	-----

**Control of the serotonergic system by the medial prefrontal cortex: potential role in the etiology of PTSD and depressive disorders.**

Pau Celada, M. Victoria Puig, Raúl Martín-Ruiz, Josep M. Casanovas y Francesc Artigas (2002)

*Neurotoxicity Research* 4: 409-419.

<b>Trabajo 8</b> .....	191
------------------------	-----

**Therapeutic role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in depression.**

Pau Celada, M. Victoria Puig, Mercè Amargós-Bosch, Albert Adell, Francesc Artigas.

*Journal of Psychiatry Neuroscience* (en prensa).

<b>V</b>	<b>DISCUSIÓN GENERAL</b>	<b>215</b>
----------	--------------------------	------------

<b>VI</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>233</b>
-----------	---------------------	------------

<b>VII</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>237</b>
------------	---------------------	------------

## ABREVIATURAS

<b>5-HIAA</b>	Ácido 5-hidroxiindolacético
<b>5-HT</b>	Serotonina o serotoninérgico
<b>5-HTP</b>	5-hidroxitriptófano
<b>LCR</b>	Líquido ceforraquídeo
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>ATV</b>	Área tegmental ventral
<b>CB</b>	Protina de unión a calcio calbindina
<b>CCK</b>	Neuropéptido colecistoquinina
<b>Cg1</b>	Área cingulada 1 de la corteza prefrontal
<b>CM</b>	Núcleo centromedial del tálamo
<b>CPF</b>	Corteza prefrontal
<b>CPFm</b>	Corteza prefrontal medial
<b>CR</b>	Proteína de unión a calcio calretinina
<b>DLAA</b>	Descarboxilasa de los L-aminoácidos aromáticos
<b>EEM</b>	Error estándar de la media
<b>FS</b>	Neurona de descarga rápida ( <i>fast spiking</i> )
<b>GABA</b>	Acido $\gamma$ -aminobutírico
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alta resolución
<b>iGluRs</b>	Receptores ionotrópicos del glutamato
<b>IL</b>	Área infralímbica de la corteza prefrontal
<b>MAO</b>	Monoaminoxidasa
<b>i.p.</b>	Administración intraperitoneal
<b>IS</b>	Neurona de descarga irregular ( <i>irregular spiking</i> )
<b>ISRS</b>	Inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina
<b>i.v.</b>	Administración intravenosa
<b>KA</b>	Kainato
<b>LC</b>	<i>Locus coeruleus</i>
<b>L-Trp</b>	Aminoácido L-triptófano
<b>MD</b>	Núcleo mediodorsal de tálamo
<b>mGluRs</b>	Receptores metabotrópicos del glutamato
<b>MOs</b>	Corteza motora secundaria
<b>NA</b>	Noradrenalina

<b>NDR</b>	Núcleo dorsal del rafe
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>NMR</b>	Núcleo medial del rafe
<b>NPY</b>	Neuropéptido Y
<b>NR</b>	Núcleos del rafe
<b>PCPA</b>	Paraclorofenilalanina
<b>PL</b>	Área prelímbica de la corteza prefrontal
<b>PSTH</b>	Histograma de periestímulo
<b>PV</b>	Proteína de unión a calcio parvalbúmina
<b>RS</b>	Neurona de descarga regular ( <i>regular spiking</i> )
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>s.c.</b>	Administración subcutánea
<b>SS</b>	Neuropéptido somatostatina
<b>TPH</b>	Triptófano hidroxilasa
<b>VIP</b>	Neuropéptido vasoactivo intestinal

# **I. INTRODUCCIÓN**



## I INTRODUCCIÓN

### 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los grandes misterios del cerebro es el control cognitivo. ¿Cómo puede la interacción entre millones de neuronas organizar el comportamiento? Existe el consenso de que los procesos implicados en la cognición humana dependen de la corteza prefrontal. Esta zona del cerebro tiene las propiedades necesarias para el control de la ejecución de tareas: plasticidad sináptica por la experiencia, gran cantidad de conexiones intrínsecas e integración de mucha información extrínseca, entre ella su regulación por los sistemas neuromoduladores del cerebro medio, que ayudan a actualizar la información (Miller y Cohen, 2001).

La corteza prefrontal (CPF) constituye el nivel más elevado en la jerarquía cortical dedicada a la representación y ejecución de acciones y es la región neocortical más evolucionada en primates, animales conocidos por disponer de un repertorio de comportamientos diverso y flexible. Además del control cognitivo, la CPF juega un papel primordial en gran número de funciones cerebrales superiores como el control de la conducta y del afecto (Fuster, 1997, 2001; Miller y Cohen, 2001). Los elementos celulares clave para la realización de estas funciones son las neuronas piramidales y el proceso básico en el que se basa la operatividad de la CPF es la memoria a corto plazo (*working memory*), proceso esencial para la cognición humana (Goldman-Rakic, 1995).

La corteza prefrontal es la parte más rostral del lóbulo frontal, con unas fronteras anatómicas imprecisas en las diversas especies de mamíferos. Sin embargo, en todas ellas, posee una conectividad recíproca con el núcleo mediodorsal del tálamo (MD; Fuster, 1997; Groenewegen y Uylings, 2000). Integra información procedente de áreas corticales asociativas así como de gran número de estructuras subcorticales, a destacar, diversos núcleos del tálamo límbico y las entradas modulatorias procedentes de los núcleos aminérgicos del mesencéfalo: los núcleos del rafe (NR), el *locus coeruleus* (LC) y el área tegmental ventral (ATV) (Azmitia y Segal, 1978; Kosofsky y Molliver, 1987; Groenewegen y Uylings, 2000). A su vez, la CPF controla a través de los axones excitadores de las neuronas piramidales la actividad de numerosas áreas subcorticales, entre ellas los núcleos aminérgicos del mesencéfalo (Groenewegen y Uylings, 2000).

La función prefrontal y su metabolismo están alterados en pacientes con enfermedades psiquiátricas severas como esquizofrenia o depresión (Weinberger *et al.*, 1994; Andreasen *et al.*, 1997; Drevets, 2001). Se sabe que los déficits cognitivos en los pacientes esquizofrénicos están provocados por alteraciones en circuitos cerebrales que implican a esta zona de la corteza cerebral (Bertolino *et al.*, 2000; Elvevag y Goldberg, 2000).

Se conoce la importancia de la dopamina en la función prefrontal (Glowinski *et al.*, 1984; Williams y Goldman-Rakic, 1995; Goldman-Rakic, 1996; Robbins, 2000b; O'Donnell, 2003). Una prueba de ello la obtenemos de estudios de neuroimagen, que muestran anomalías en las vías dopaminérgicas ascendentes en pacientes esquizofrénicos (Laruelle *et al.*, 1996; Abi-Dargham *et al.*, 2002). Sin embargo, el papel de la serotonina (5-HT) en la función prefrontal está mucho menos explorado, a pesar de conocerse que está densamente inervada por axones serotoninérgicos y que expresa algunos receptores para la 5-HT en alta densidad, principalmente los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> (Azmitia y Segal, 1978; Pazos y Palacios, 1985; Pazos *et al.*, 1985; Blue *et al.*, 1988; Pompeiano *et al.*, 1992, 1994; Hall *et al.*, 2000; Talvik-Lotfi *et al.*, 2000; Arango *et al.*, 2002).

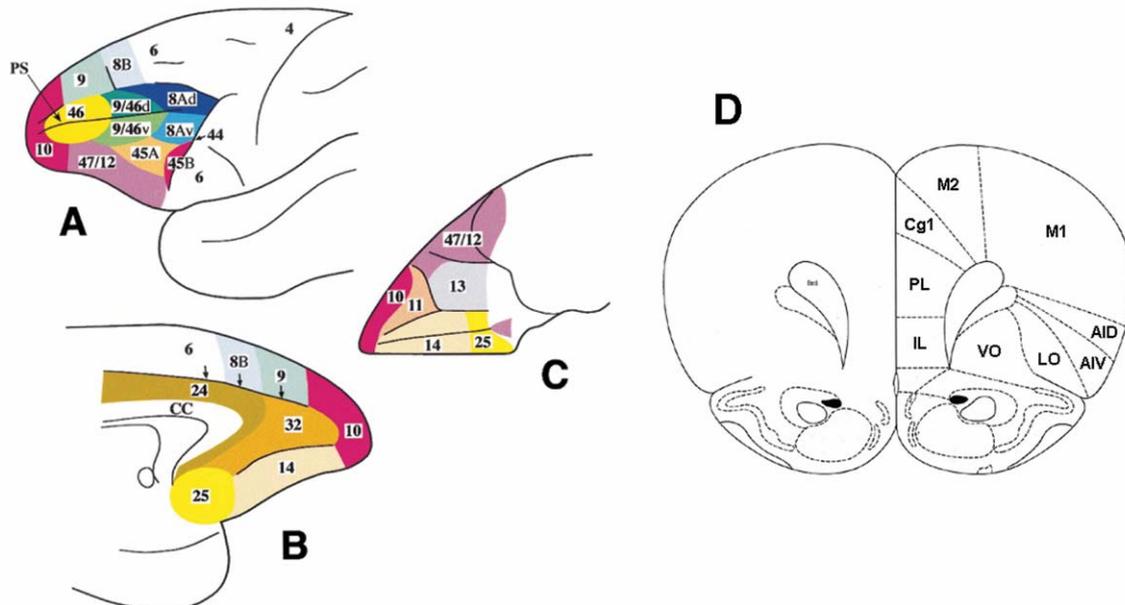
Aunque se han descrito gran número de alteraciones anatómo-patológicas en el cerebro de esquizofrénicos, no existe hoy en día una idea clara de qué cambios son responsables de la sintomatología y cuales son epifenómenos o efectos de la medicación tomada durante décadas. El tratamiento farmacológico clásico de la esquizofrenia se basa en la utilización de antagonistas de los receptores de la dopamina (DA) D2 (clorpromacina, haloperidol). Estos fármacos son efectivos en la sintomatología psicótica pero no en la sintomatología negativa/afectiva y existen serias evidencias de que producen un deterioro cognitivo por el bloqueo de las acciones dopaminérgicas en la CPF. Sin embargo, el bloqueo de las acciones motoras de la DA en la vía nigro-estriatal produce sintomatología extrapiramidal y discinesias tardías, y el bloqueo dopaminérgico en el hipotálamo produce hiperprolactinemia. Algunos de estos efectos secundarios son graves y obligan a suspender el tratamiento. El descubrimiento de la clozapina a mediados de los años 70 abrió la puerta al desarrollo de una nueva generación de fármacos con un perfil farmacológico distinto, una mayor afinidad por receptores de la serotonina 5-HT<sub>2A</sub> que por dopamina D2, y una menor propensión a producir efectos motores

secundarios graves (Meltzer,1999). Además, diversos antipsicóticos atípicos, como la ziprasidona o el aripiprazol, muestran una afinidad elevada por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, en el cual actúan como agonistas, mientras que otros que no presentan alta afinidad por estos receptores, como la risperidona o la propia clozapina, actúan de hecho como agonistas indirectos de dicho receptor (Millan,2000; Ichikawa *et al.*,2001). Este hecho ha precipitado que en los últimos años diversos grupos estudien el papel de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub> en el control de la actividad de las neuronas de la corteza prefrontal, como un paso previo para comprender la base neurológica de la acción terapéutica de los antipsicóticos atípicos.

Por otra parte, desde los años 60 se ha relacionado al sistema serotoninérgico con la depresión. Estudios de neuroimagen describen la existencia de alteraciones en el cerebro de enfermos con depresión recurrente frente a individuos control (reducción del volumen hipocampal; Sheline *et al.*,1999). Los fármacos más utilizados para tratar la depresión (inhibidores selectivos de recaptación de serotonina o ISRS) poseen una eficacia menor que la de los tricíclicos más efectivos (como la clomipramina) en enfermos con depresión severa (Danish University Antidepressant Group,1986, 1990). El éxito de los ISRS se debe fundamentalmente a la inexistencia de efectos secundarios graves, lo que facilita el cumplimiento de las pautas terapéuticas. No está claro todavía cual(es) de los 14 subtipos de receptores de 5-HT están implicados en los efectos antidepresivos de los ISRS, aunque se ha sugerido que los 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos en el área CA del hipocampo jugarían un papel importante (Blier y de Montigny,1994). Además, estudios previos de nuestro grupo de trabajo han puesto de manifiesto, a nivel preclínico y clínico, la importancia de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> mesencefálicos en el mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos (Artigas *et al.*,1996; Artigas *et al.*,2001). Es importante tener en cuenta que alrededor de un tercio de los enfermos tratados con fármacos antidepresivos no experimenta mejora o ésta es incompleta, lo que plantea un problema médico y social de gran envergadura, por el riesgo de cronificación y suicidio.

Así, el enorme daño psíquico de los pacientes depresivos y esquizofrénicos, los costes socioeconómicos asociados a estas enfermedades psiquiátricas y la posible existencia de daño neurológico justifican la imperiosa necesidad de conseguir tratamientos más rápidos y eficaces que los actuales. Por todo ello hemos considerado

necesario explorar en profundidad las interacciones funcionales entre los núcleos del rafe y la corteza prefrontal, objetivo principal de la presente tesis.



**Figura 1.** Estructura de la corteza prefrontal de mono y rata. Vista lateral (A), vista medial (B), vista inferior (C) de la corteza prefrontal de mono (actualización de Petrides y Pandya (1994) del mapa de Brodmann). D) Vista coronal de la corteza prefrontal de rata (+3.2 mm anterior a bregma, atlas de Paxinos y Watson, 1998). Área lateral: AID y AIV, corteza agranular insular dorsal y ventral; área ventral: VO y LO, corteza orbital ventral y lateral; área medial: Cg1, corteza cingulada; PL, corteza prelímbica; IL, corteza infralímbica. También se muestran las áreas motoras 1 y 2, M1 y M2.

## 2. LA CORTEZA PREFRONTAL

### 2.1 Citoarquitectura de la corteza prefrontal e implicación en funciones cerebrales superiores

El lóbulo frontal está constituido por la corteza motora, premotora y prefrontal. Las cortezas motora y premotora participan en la selección y generación del movimiento mientras que la prefrontal es la corteza de asociación que participa en procesos cognitivos y motivacionales/emocionales. En humanos se sabe que es una corteza de mielinización tardía (la mielinización total no llega hasta la adolescencia), lo que es coherente con la evidencia de que las funciones comportamentales que controla maduran tarde en la vida: el lenguaje elaborado y el razonamiento.

En primates, la CPF comprende las áreas 8-13, 24, 32, 46 y 47 del mapa citoarquitectónico que Brodmann dibujó en 1909 (figura 1) y constituye casi una tercera parte del neocortex. Puede dividirse en dos regiones principales: orbitomedial y dorsolateral. La región orbitomedial está implicada en el comportamiento emocional/motivacional (por ejemplo, la inhibición del comportamiento), mientras que la dorsolateral (la más desarrollada en humanos) participa en la organización temporal del comportamiento, el lenguaje y el razonamiento. La integración temporal y la memoria de trabajo (*working memory*) son funciones controladas por la región dorsolateral. Además, la CPF participa en funciones sensorimotoras y viscerales. Todas estas áreas están conectadas entre ellas (Fuster, 1997).

En la rata la CPF se subdivide en tres áreas principales: la lateral (áreas insular agranular dorsal (AID) y ventral (AIV)), orbital (localizada ventralmente al cuerpo calloso) y medial (figura 1). A su vez, la corteza prefrontal medial (CPFm) se divide en tres zonas (de dorsal a ventral): cingulada anterior (Cg1), prelímbica (PL) e infralímbica (IL). Aunque no está clara la función de estas subdivisiones en la rata, estudios recientes (que presentaremos en el apartado de conectividad de la CPF) infieren del patrón de proyecciones de la zona PL e IL que la primera participaría más en las funciones límbico-cognitivas (homólogas a la CPF dorsolateral de primates), y la segunda controlaría actividades viscerales-autónomas (homólogas a la CPF orbitomedial de primates) (Vertes, 2004). Las funciones de la CPF están

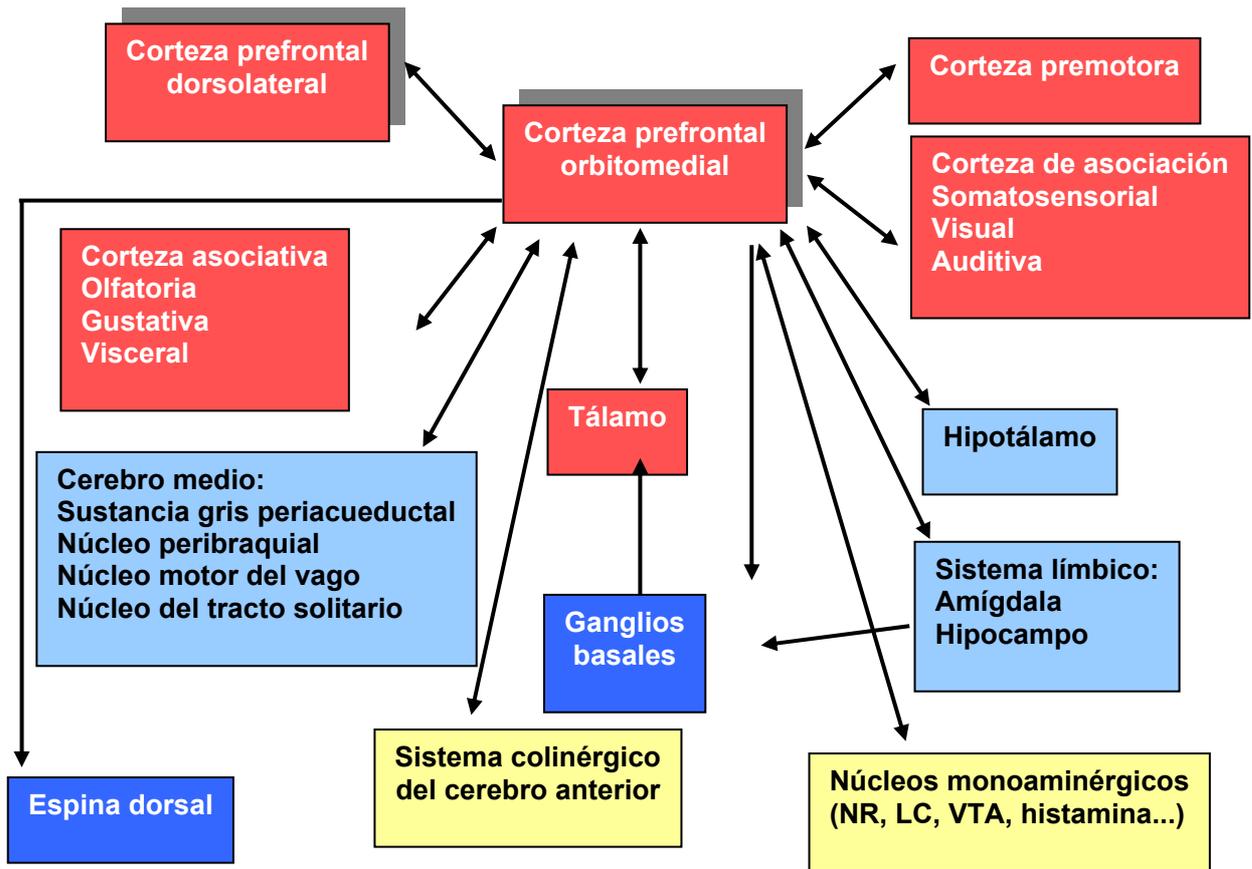
íntimamente ligadas a su conectividad con gran variedad de estructuras cerebrales y no pueden entenderse fuera de este contexto (Fuster, 1997; 2001).

## 2.2 Conectividad

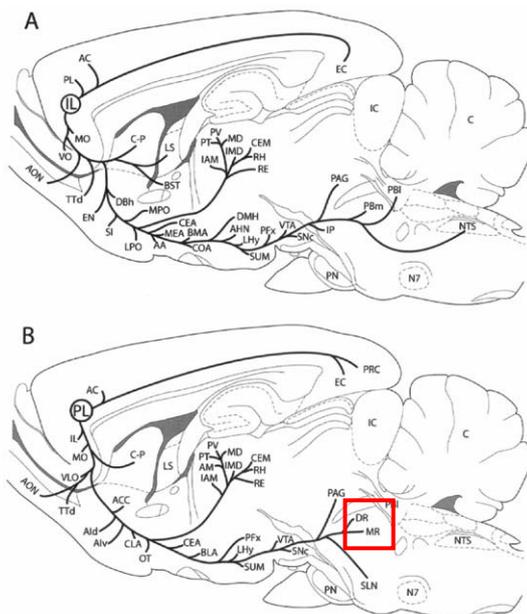
La CPF es la corteza integradora de información por excelencia. Comprende un conjunto de áreas neocorticales interconectadas que envía y recibe proyecciones de, virtualmente, todos los sistemas sensoriales corticales, sistemas motores y muchas estructuras subcorticales. Para un resumen de las conexiones cortico-corticales en primate y rata ver Groenewegen y Uylings (2000).

A nivel subcortical, la CPF **proyecta** preferentemente al tálamo, a los núcleos aminérgicos del mesencéfalo (NR, LC, ATV), al hipotálamo lateral, a los ganglios basales (caudado-putamen, núcleo accumbens y partes estriatales del tubérculo olfatorio), a la habénula lateral y al sistema límbico (amígdala e hipocampo). (Berendse y Groenewegen, 1991; Groenewegen *et al.*, 1997; Groenewegen y Uylings, 2000; figura 2). Más específicamente, estudios de trazado de la CPFm de rata describen proyecciones distintas desde las zonas Cg1, PL e IL de la CPFm (Takagishi y Chiba, 1991; Vertes, 2004; figura 3).

Mucha de esta conectividad es recíproca (figura 2). Esto es, la CPF **recibe** aferencias principalmente del tálamo, de los núcleos aminérgicos, del sistema límbico (complejo amigdalóide basal e hipocampo ventral) y del hipotálamo. Tanto la amígdala como el hipotálamo proyectan a las porciones ventral y medial de la CPF (Ray y Price, 1993; Jacobson *et al.*, 1978). Las aferencias del hipocampo llegan a todas las regiones prefrontales (Barbas y Blatt, 1995). Probablemente, las interconexiones de la CPF con la amígdala y el hipocampo participan en el control del comportamiento emocional mientras que las conexiones con el hipotálamo estén involucradas en las funciones viscerales (figura 2; para todas las aferencias/eferencias de la CPF ver Fuster, 1997 y Groenewegen y Uylings, 2000).



**Figura 2.** Esquema representativo de las aferencias y eferencias de la corteza prefrontal orbitomedial de primate (modificado de Groenewegen y Uylings, 2000).



**Figura 3.** Representación esquemática de cortes sagitales del cerebro de rata resumiendo las proyecciones principales de las cortezas infralímbica (IL; A) y prelímbica (PL; B). El cuadrado en rojo muestra la localización del NDR y NMR, a los que proyecta la corteza PL y de forma más escasa la IL. Modificado de Vertes, 2004.

### 2.2.1 Aferencias tálamo-corticales

Las conexiones entre la CPF y el núcleo mediodorsal del tálamo (MD) están especialmente bien organizadas topográficamente, y esta conexión se ha utilizado como criterio para identificar a la CPF en una gran variedad de especies (Rose y Woolsey, 1948; Fuster, 1997). Esta vía es excitadora y activa a las neuronas corticales a través de receptores AMPA (Pirot *et al.*, 1994). Posteriormente se ha demostrado que el núcleo MD del tálamo también proyecta a zonas corticales más posteriores, como el área premotora o la motora primaria. Por lo tanto el criterio sugerido inicialmente por Rose y Woolsey no es un criterio unequivoco para definir a la CPF, aunque es cierto que las conexiones recíprocas más importantes de este núcleo talámico se dan con la CPF.

En la rata, el segmento medial del núcleo MD del tálamo proyecta predominantemente a la CPFm (áreas PL e IL), orbital (OB) y lateral (AID). Estas aferencias talámicas transmiten información límbica y visceral a la CPF. Otros segmentos del núcleo MD funcionan como relé para otras funciones corticales (autónomo visceral, olfatoria, motora a partir de los ganglios basales, etc.) (Groenewegen y Uylings, 2000; Kuroda *et al.*, 1998).

A su vez, la CPF, además de recibir proyecciones del núcleo MD, también recibe proyecciones de los denominados núcleos de la línea media y núcleos intralaminares del tálamo dorsal. Los primeros son una serie de núcleos localizados en la parte más medial del complejo talámico, ocupando toda la línea dorso-ventral. Los núcleos intralaminares se localizan lateralmente al núcleo mediodorsal (MD) y están contenidos dentro de la lámina medular interna, una capa fina de materia blanca (figura 4). A continuación detallamos los distintos núcleos de la línea media e intralaminares del tálamo (Berendse y Groenewegen, 1991; Van der Werf *et al.*, 2002). Señalados en **negrita** los que más proyectan a la CPFm:

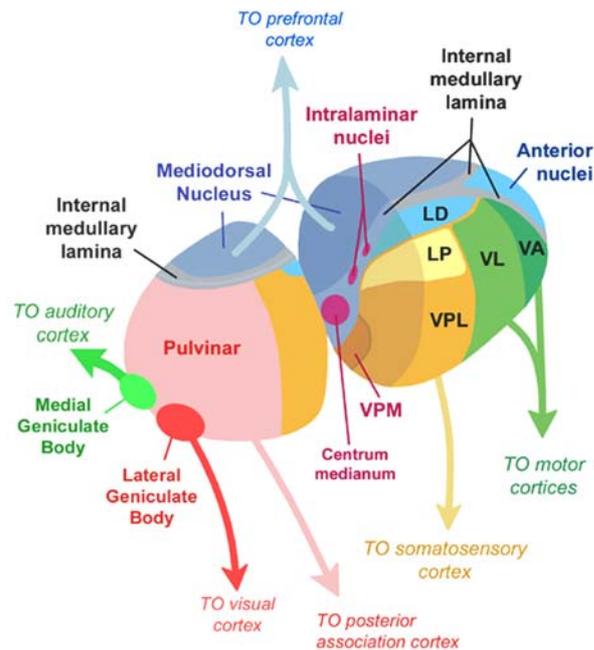
#### 1) Núcleos de la línea media:

**Núcleo paratenial** (Pt), **paraventricular** (PV), intermediodorsal (IMD), romboide (Rh) y reuniens (Re).

## 2) Núcleos intralaminares:

Núcleos del grupo rostral: **núcleo centromedial** (CeM o CM), paracentral (PC) y centrolateral (CL).

Núcleos del grupo caudal: núcleo parafascicular (PF).



**Figura 4.** Esquema de la localización en el espacio de los distintos núcleos talámicos y sus proyecciones a la corteza cerebral. Destacamos la localización del núcleo mediodorsal (*mediodorsal nucleus*), centromedial (*centrum medianum*) y los núcleos intralaminares (*intralaminar nuclei*). Tomado de la página WEB de la Universidad de Florida ([www.ufl.edu](http://www.ufl.edu)).

### 2.2.2 Conectividad con los núcleos aminérgicos del mesencéfalo

Existe una conexión recíproca entre la CPF y los núcleos aminérgicos del cerebro medio. El control de la corteza sobre estos núcleos modulatorios es especialmente importante ya que a través de ellos es capaz de influenciar a amplias zonas del cerebro de una forma coordinada. Tal y como se ha comentado en los apartados anteriores, la CPF recibe aferencias excitadoras de otras áreas corticales así como del tálamo. Estas entradas excitadoras están moduladas por aferencias de los

núcleos monoaminérgicos del mesencéfalo, en concreto por 5-HT de los NR, noradrenalina del LC y dopamina del ATV (o A10).

La innervación dopaminérgica de la CPF ha sido extensamente estudiada tanto a nivel anatómico como funcional (Lewis y Sesack, 1997; Carr *et al.*, 1999; Sesack y Carr, 2002). Se sabe que en primates los terminales dopaminérgicos innervan toda la corteza frontal, mientras que en la rata esta innervación es más discreta y mayoritaria para la CPF. Sin embargo, la innervación noradrenérgica y serotoninérgica está menos estudiada (Robbins, 2000a). Según Branchereau *et al.* (1996), la NA ejerce respuestas complejas en la CPFm, con una predominancia de respuestas inhibitorias mediadas, probablemente, por interneuronas GABAérgicas corticales. En cuanto a las proyecciones serotoninérgicas, se ha descrito a nivel anatómico que las proyecciones a la corteza frontal desde el NDR y el NMR son diferentes (O'Hearn y Molliver, 1984).

Recíprocamente, la CPF (y en ratas especialmente la CPF medial) proyecta a los núcleos monoaminérgicos. De nuevo, las proyecciones entre la CPF y el sistema dopaminérgico han sido las más estudiadas. Trabajos de microscopía electrónica muestran que los terminales de la CPF innervan neuronas DA que vuelven a la CPF y neuronas GABAérgicas que proyectan al núcleo accumbens y que estos circuitos son de una extraordinaria especificidad (Carr y Sesack, 1999; 2000b).

Se conoce también que la CPF proyecta al LC, sobre el que ejerce una potente excitación tónica, contactando con las dendritas de las neuronas NA en la zona adyacente a la parte central del núcleo (Jodo *et al.*, 1998). Otros trabajos señalan una acción inhibitoria de la corteza frontal sobre el LC (Sara y Herve-Minvielle, 1995).

Con respecto a los NR, se describieron inicialmente aferencias desde la corteza en la rata (Aghajanian y Wang, 1977). Otros estudios realizados mediante trazado retrógrado describen que todas las zonas de la CPFm (Cg, PL e IL) proyectan, en mayor o menor grado, al NDR (Sesack *et al.*, 1989; Peyron *et al.*, 1998; Hajós *et al.*, 1998). Estudios más recientes muestran proyecciones distintas entre las cortezas PL e IL, siendo la primera la que mayoritariamente proyecta a los NR, tal y como muestra la figura 3 (Vertes, 2004).

### 2.3 Neuroanatomía química

Existen características de la citoarquitectura cortical que son comunes en todas las áreas de la corteza, como la estratificación de las células en capas o la regularidad en ciertas conexiones. Con toda probabilidad estas características tienen una gran relevancia funcional.

En la CPFm de rata, las capas superficiales de la corteza se localizan en la zona más cercana a la línea media del cerebro y las capas profundas más lateralmente a éstas. Criterios citoarquitectónicos establecidos en primates definían a la capa IV de la CPF como “granular”, de tal manera que las cortezas motora primaria y premotora, que no contienen esta capa, eran “agranulares” y la CPF, que sí contiene esta capa en primates y humanos, era considerada “granular”. El problema surgió con las diferencias entre especies: se da el caso que en la mayoría de especies no primate/humano no existe capa IV en la CPF y, por lo tanto, ésta debe considerarse “agranular”.

En la rata la diferenciación entre las 5 capas de la CPFm es compleja porque se trata de una zona muy empaquetada al lado de la línea media del cerebro. Según Swanson (1998) se distinguen tan sólo cuatro: la capa I, II/III, V y VI. La capa I es la más fácil de delimitar ya que en ella no existen somas de neuronas piramidales (McCormick *et al.*, 1985). El cuerpo de las neuronas piramidales se localiza principalmente en las capas II/III (pequeñas pirámides), V (grandes pirámides) y VI. Las dendritas apicales de las neuronas piramidales se disponen perpendicularmente a la línea media y terminan en capa I.

Aparte de las neuronas piramidales, en la corteza existe otra población neuronal de interneuronas GABAérgicas que están localizadas homogéneamente en todas las capas corticales, incluyendo la capa I.

#### *Características de las neuronas piramidales de la CPFm*

Las neuronas piramidales son la población neuronal mayoritaria en la corteza (alrededor de un 75-80% del total) y son glutamatérgicas. A nivel morfológico, están constituidas por un soma de aproximadamente 25-50  $\mu\text{m}$  de diámetro, un conjunto de dendritas basales que se encuentran cerca del soma y una dendrita apical, que proyecta hacia las capas superficiales. Gracias a esta dendrita apical las neuronas

piramidales tienen la capacidad de captar la información que llega a través de las distintas capas corticales y una vez integrada emitir un impulso eléctrico hacia las áreas de proyección. Existe una especificidad laminar en el tipo de proyecciones de la corteza frontal: las neuronas piramidales de las capas II/III tienden a proyectar a otras áreas de la corteza, las de la capa VI al tálamo y algunas zonas corticales y son principalmente las neuronas piramidales de capa V las que canalizan la señal de salida hacia la multitud de estructuras subcorticales (Lambe *et al.*, 2000).

### *Características de las interneuronas de la CPFm*

Las interneuronas GABAérgicas representan el 15-30% de la población neuronal de la corteza y proporcionan un control local inhibitorio (Beaulieu, 1993; Somogyi *et al.*, 1998; DeFelipe, 2002). En los últimos años se ha estudiado mucho su morfología, bioquímica y patrón de descarga, y de estos trabajos han surgido numerosas clasificaciones. Sin embargo, no se ha llegado a un consenso, probablemente porque existe una gran diversidad de ellas. A continuación presentamos las clasificaciones por morfología y neuroquímica.

#### 1) Clasificación morfológica

Se puede realizar por la forma y el tamaño del soma en combinación con el tipo de árbol dendrítico: neuronas comunes, en cesto (*basket cells*; clasificadas en grandes y pequeñas), en candelabro (*chandelier*), en dos ramilletes (*double bouquet*), Martinotti, bipolares y de forma neuroglial. A su vez, la arborización del axón se clasifica en tres grupos: local (grupo I), horizontal (grupo II) y vertical (grupo III) (para revisión ver DeFelipe, 2002).

#### 2) Clasificación bioquímica

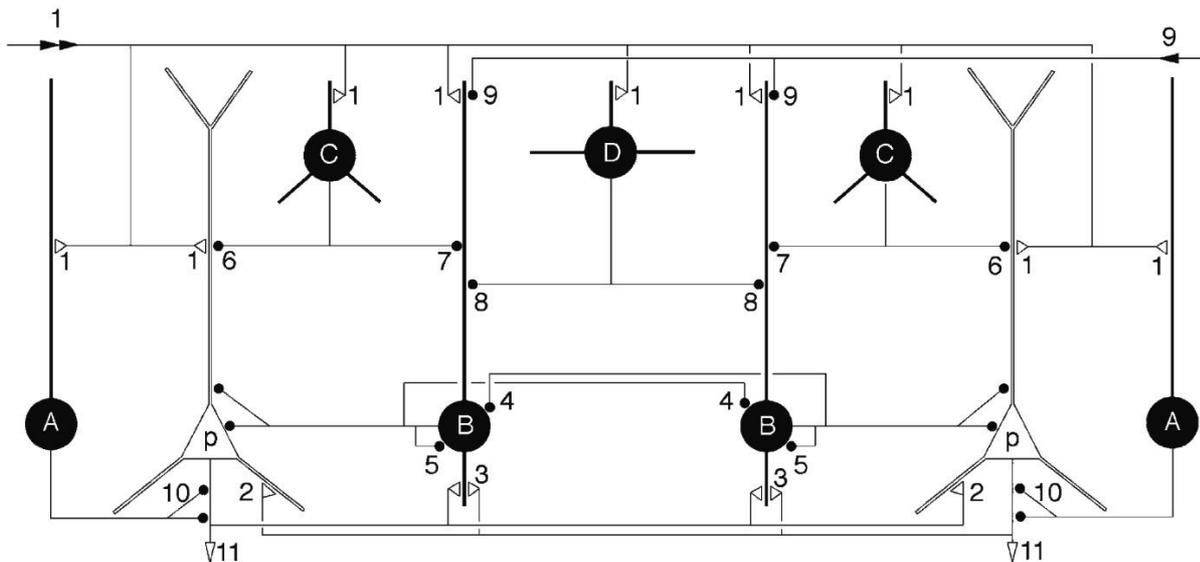
Las interneuronas corticales pueden expresar tres tipos de proteínas de unión a calcio: calbindina (CB), parvalbúmina (PV) y calretinina (CR). Además, también existe otra clasificación según el neuropéptido que contienen, que puede ser neuropéptido Y (NPY), péptido vasoactivo intestinal (VIP), somatostatina (SS) o colecistoquinina (CCK). La expresión de estas proteínas de unión a calcio y neuropéptidos no es exclusivo de un tipo neuronal, es decir, encontramos distintas

poblaciones de interneuronas que expresan varias proteínas de unión a calcio y neuropéptidos en distintas combinaciones.

La actividad de la corteza funciona a base de microcircuitos que consisten en un conjunto de conexiones muy selectivas entre las neuronas piramidales y las interneuronas GABAérgicas. En los últimos años se ha sugerido que existe un circuito básico que se adapta a cada neurona piramidal dependiendo de sus conexiones de entrada y de salida. Este circuito básico se observa mejor en el hipocampo, cuya corteza se organiza de una forma más homogénea, ya que las neuronas piramidales se encuentran alineadas en el espacio. Se ha observado que estos circuitos hipocámpales son idénticos o muy similares a los existentes en el resto de corteza cerebral, donde se repetirían varias veces en cada capa. En la figura 5 se muestra la estructura básica de este microcircuito cortical con sus distintos componentes y conexiones específicas. Además de éstos, existen conexiones intralaminares, para unir neuronas piramidales con propiedades similares, e interlaminares (columnares) para coordinar la actividad de distintos circuitos (Somogyi *et al.*, 1998; DeFelipe *et al.*, 2002).

#### **2.4 Patrón de descarga de las neuronas corticales**

El estudio *in vivo* de los patrones de descarga de las neuronas piramidales ha llevado a clasificarlas en tres grupos: de descarga regular (RS, *regular spiking cells*), con ráfagas inactivadoras (IB, *inactivating bursting cells*) y con ráfagas no inactivadoras (NIB, *non-inactivating bursting cells*) (Dégenétais *et al.*, 2002). A su vez, las RS se dividen en adaptadoras lentas y rápidas. Las neuronas IB descargan en ráfagas (*bursts*) de tres a cinco potenciales que presentan adaptación a lo largo del tiempo, es decir, van aumentando su duración y disminuyendo su amplitud (McCormick *et al.*, 1985). En cambio, las ráfagas de las neuronas NIB no presentan adaptación (Dégenétais *et al.*, 2002). Todas estas características se han descrito por técnicas de registro intracelular mediante la aplicación de pulsos despolarizantes a la membrana de las células, pero debe tenerse en cuenta que en registros extracelulares no se pueden discernir muchas de ellas.



**Figura 5.** Representación simplificada de un circuito básico cortical. Cada circuito consiste de una neurona piramidal (p) y de un conjunto de neuronas GABAérgicas (A,B,C,D) que reciben inervaciones glutamatérgicas extrínsecas (1). Las neuronas piramidales se interconectan entre ellas (2) e inervan distintas clases de neuronas GABAérgicas (3). Las interneuronas en cesto (B) también están muy interconectadas (4) y se inervan a sí mismas mediante autapsis (5). Otras clases de interneuronas GABAérgicas (C) inervan a las neuronas piramidales (6) y a otras interneuronas (7). Algunas células GABAérgicas (D) están especializadas en controlar a otras células GABAérgicas (8). Aferencias extrínsecas GABAérgicas y monoaminérgicas (9) inervan a tipos específicos de interneuronas. La salida principal del circuito es a través del axón de las neuronas piramidales (11), influenciados por las células GABAérgicas que realizan contactos axo-axónicos (A), lo cual es específico de los circuitos corticales, que inervan selectivamente el cono axonal (10). En la corteza, este circuito se repite en las distintas capas donde, además, existen conexiones intralaminares e interlaminares a través tanto de neuronas glutamatérgicas como GABAérgicas (tomado de Somogyi *et al.*, 1998). Está descrito también una inervación serotoninérgica de neuronas piramidales (Jansson *et al.*, 2001).

A su vez, las interneuronas GABAérgicas se han clasificado a nivel de patrón de descarga en distintos tipos, aunque sus características y su nomenclatura son distintas para los diferentes grupos de investigación (McCormick *et al.*, 1985; Connors y Gutnick, 1990; Cauli *et al.*, 1997; Kondo y Kawaguchi, 2001; Kawaguchi y Kondo, 2002). Por ejemplo, Cauli *et al.* (1997) describen tres tipos de neuronas no-piramidales: las de descarga rápida (FS o *fast-spiking cells*, que descargan tónicamente potenciales de acción sin adaptación), las de descarga regular (RS, que descargan con una marcada adaptación) y finalmente, las de descarga irregular (IS o *irregular spiking cells*, que descargan en ráfagas con una frecuencia irregular). Se

ha descrito que los distintos tipos de arborización de las interneuronas se correlacionan con una frecuencia de descarga progresivamente más lenta y potenciales de acción más amplios. Es decir, las neuronas en candelabro son las de arborización más estrecha y por tanto las más rápidas (FS) y con el potencial de acción más estrecho, mientras que las de arborización más amplia son las que descargan más lentamente y con el potencial de acción más amplio (de hecho su patrón de descarga es el más parecido al de las neuronas piramidales; Krimer y Goldman-Rakic, 2001).

### **3. EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO**

#### **3.1 Funciones fisiológicas de los núcleos del rafe**

La amplia distribución del sistema serotoninérgico en el organismo se traduce en una implicación en numerosos procesos fisiológicos y patológicos dentro y fuera del SNC.

Fuera del SNC la 5-HT está involucrada en la contracción del músculo liso, la movilidad gastrointestinal, en mecanismos secretores periféricos e interacciona con neuronas sensoriales. A nivel circulatorio está implicada en la agregación plaquetar y puede actuar como vasodilatador o vasoconstrictor según la zona de circulación o el estado de la misma (para revisión ver Fozard, 1989).

En el SNC la 5-HT está implicada en numerosas funciones fisiológicas como regulación del dolor, regulación de la temperatura corporal, ingesta de comida y bebida, control del vómito, regulación neuroendocrina, actividad motora, control de la función cardiovascular, contracción muscular, regulación de la actividad sexual, ciclo sueño-vigilia y procesos de memoria y aprendizaje (para revisión ver Bradley *et al.*, 1992).

Aparte de la implicación del sistema serotoninérgico en depresión y esquizofrenia, se conoce la participación de la 5-HT en otras enfermedades psiquiátricas como el pánico y la ansiedad, el trastorno obsesivo-compulsivo y la anorexia/bulimia (Coccaro *et al.*, 1990). Por otra parte, parece que la 5-HT está relacionada con la sintomatología de algunas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson

(Chinaglia *et al.*, 1993), el Alzheimer (Toghi *et al.*, 1992) o el Corea de Huntington (Cross, 1990). También está implicada en algunos trastornos neurológicos como al migraña (Humphrey *et al.*, 1990a, 1990b; Lance, 1993).

### 3.2 Neuroanatomía química

Las neuronas 5-HT presentes en la línea media del mesencéfalo se conocen desde Santiago Ramón y Cajal (1911), pero fueron Dahlström y Fuxe quien en 1964 demostraron que dichas neuronas contenían serotonina. Ambos autores describieron que la mayoría de estas células se encontraban agrupadas en 9 núcleos que denominaron B1 a B9. Dichos grupos se corresponden con distintos núcleos cerebrales, siendo el NDR el B7 y el NMR el B8. Desde un punto de vista ontogénico se puede establecer una subdivisión: los núcleos B5, B6, B7, B8 y B9 conforman el grupo rostral o superior, y B1, B2, B3 y B4 conforman el grupo caudal o inferior (Törk, 1990).

Las proyecciones de las neuronas serotoninérgicas constituyen uno de los sistemas anatómicos y funcionales más complejos y extensos del cerebro de los mamíferos (para revisión ver Jacobs y Azmitia, 1992). Como muestra de dicha complejidad podemos decir que aunque la proporción de neuronas 5-HT respecto al resto de neuronas del SNC es muy baja (1/200,000), su capacidad de innervación de estructuras anteriores, como la corteza cerebral o el hipocampo, es muy alta, estimándose de 3 a 6 millones el número de varicosidades por  $\text{mm}^3$  (Audet *et al.*, 1989; Oleskevich y Descarries, 1990). Los somas de las neuronas 5-HT de NDR son de tamaño medio (15-25  $\mu\text{m}$  de diámetro), con un núcleo relativamente pequeño.

Dentro del NDR las neuronas están relativamente empaquetadas mientras que el NMR está menos organizado. La estructura interna y los tipos celulares del NDR presentan poca variación entre distintas especies, lo que sugiere una elevada conservación a lo largo de la evolución. Recientemente, un estudio de la evolución neuroanatómica del NDR en distintas especies ha revelado que el patrón evolutivo a un cerebro mayor es una combinación de más neuronas 5-HT, más grandes, que innervan más áreas cerebrales, pero que porcentualmente representan menos neuronas con respecto al volumen cerebral (Underwood *et al.*, 2003). En la Tabla 1 se presentan los resultados de este estudio.

Además de 5-HT, algunas neuronas serotoninérgicas sintetizan sustancia P, hormona liberadora de tiratropina, encefalinas, los enzimas NO-sintasa y DNPH-diaforasa y galanina (Hökfelt, 1986; Xu y Hökfelt, 1997). Por otra parte, no se ha detectado la coexpresión del enzima sintetizador de GABA GAD junto con el transportador de 5-HT 5-HTT (Serrats *et al.*, 2003), aunque sí se ha descrito la expresión del transportador vesicular de glutamato vGluT3 en neuronas 5-HT (Johnson, 1994; Gras *et al.*, 2002).

Espece	Número de neuronas 5-HT	Volumen del NDR	Densidad
Humana	123,112±7,411	51.2±7.5	3,808±1,161
Mono Rhesus	56,802±4,588	10.9±2.8	8,352±3,746
Mono Vervet	19,391±2,730	4.8±0.4	4,018±388
Rata	16,600±7,267	1.1±0.3	12,227±5,551
Ratón	16,176±2,550	0.7±0.1	30,300±5,035

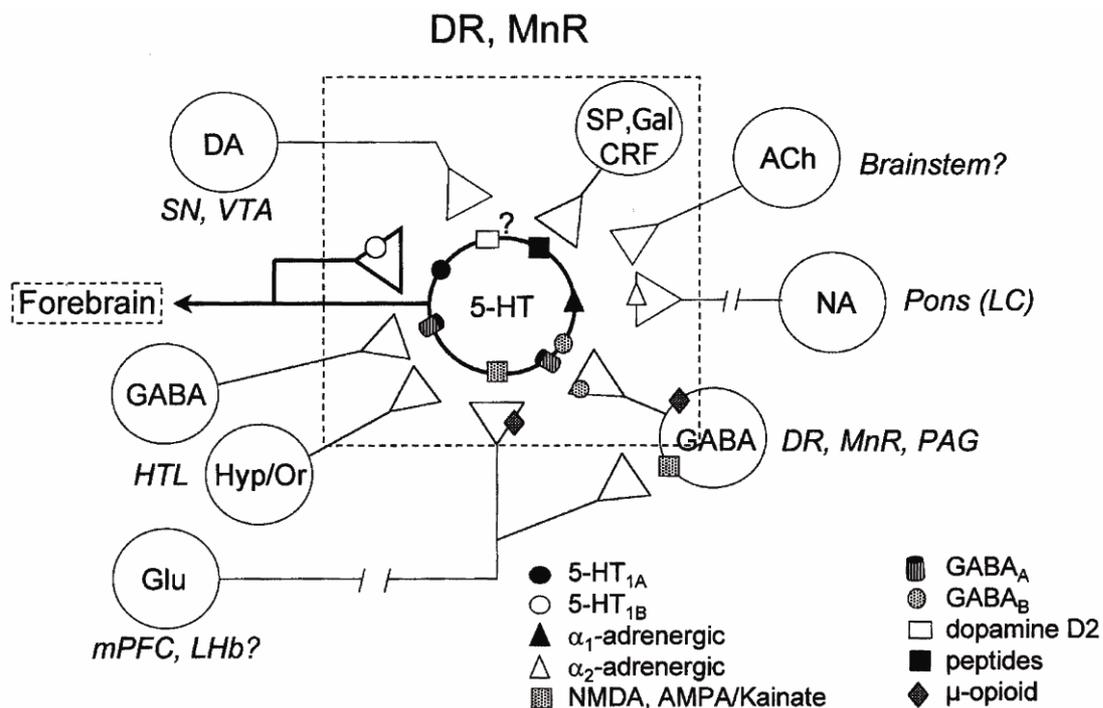
**Tabla 1.** Diferencias en el número total de neuronas 5-HT, volumen del NDR (mm<sup>3</sup>) y densidad (neuronas/ mm<sup>3</sup> de cerebro) entre distintas especies de mamíferos. Extraído de Underwood *et al.* (2003).

Dentro de los NR existe una proporción variable de neuronas no serotoninérgicas que sintetizan otros neurotransmisores. En el caso del NDR las neuronas 5-HT sólo suponen el 33% de todas las neuronas de dicho núcleo, estimadas en unas 36.000 en la rata (Descarries *et al.*, 1982). Así, se han descrito neuronas que contienen dopamina (Hökfelt *et al.*, 1976; Geffard *et al.*, 1987; Kalén *et al.*, 1988a), GABA (Nanopoulos *et al.*, 1982; Belin *et al.*, 1983; Stamp y Semba, 1995), glutamato (Clements *et al.*, 1987), dinorfina, encefalina y neuropéptidos, como somatostatina (Smith *et al.*, 1994), colecistoquinina (Van der Kooy *et al.*, 1981) y galanina (Xu y Hökfelt, 1997).

### 3.3 Conectividad de los núcleos del rafe

#### 3.3.1 Aferencias

La actividad de las neuronas 5-HT está regulada por numerosas aferencias de distinta procedencia (para revisión, ver Jacobs y Azmitia, 1992; Peyron *et al.*, 1998; Adell *et al.*, 2002a; figura 6). De entre estas, dos poseen especial relevancia: la CPF y el LC.



**Figura 6.** Esquema de las estructuras principales y los neurotransmisores involucrados en la regulación de las neuronas 5-HT. Tomado de Adell *et al.* (2002).

**Aferencias glutamatérgicas:** Las neuronas piramidales de la CPF proyectan a los núcleos aminérgicos del tronco del encéfalo y densamente a las neuronas serotoninérgicas tanto del NDR como del NMR (Aghajanian y Wang, 1977; Sesack *et al.*, 1989; Takagishi y Chiba, 1991; Hajós *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003; Vertes, 2004; Jankowski y Sesack, 2004). Sin embargo, el NDR también recibe aferencias de glutamato-aspartato de la habénula lateral (Aghajanian y Wang, 1977; Stern *et al.*, 1981; Kalén *et al.*, 1989) que, de hecho, parecen ser las de mayor densidad de

entre todas las aferencias que le llegan. Aunque la naturaleza de las aferencias de la habénula lateral es glutamatérgica (Kalén *et al.*, 1985), se ha descrito que el carácter de dichas aferencias es inhibitorio, debido probablemente a la actuación del glutamato sobre neuronas GABAérgicas localizadas a nivel del NDR (Aghajanian y Wang, 1977; Stern *et al.*, 1981; Kalén *et al.*, 1989).

*Aferencias noradrenérgicas:* Existe una fuerte interrelación anatómica y funcional entre los NR y el LC. Este último núcleo contiene la mayor parte de las neuronas NA, que regulan tónicamente la actividad de las neuronas 5-HT a través de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos. El locus subcoeruleus y algunos grupos de neuronas pontinas también envían aferencias noradrenérgicas al NDR (Aghajanian y Wang, 1977; Baraban y Aghajanian, 1981; Peyron *et al.*, 1996).

*Aferencias adrenérgicas:* procedentes del núcleo hipogloso, perihipogloso y del núcleo del tracto solitario (Aghajanian y Wang, 1977; Sakai *et al.*, 1977).

*Aferencias dopaminérgicas:* El sistema dopaminérgico parece ejercer una importante influencia excitadora sobre el NDR (Ferré *et al.*, 1994; Martín-Ruiz *et al.*, 2001). Tanto la sustancia negra como el ATV envían aferencias al NDR, así como grupos aislados de neuronas del núcleo dopaminérgico hipotalámico (Stern *et al.*, 1981; Lee y Geyer, 1984; Kalén *et al.*, 1988a; Peyron *et al.*, 1995). Se conoce muy poco las aferencias dopaminérgicas al NDR.

*Aferencias GABAérgicas:* proceden del hipotálamo lateral, dorsal, posterior y ventromedial (área preóptica), del núcleo paragigantocelular (bulbo raquídeo), del núcleo central de la amígdala (Peyron *et al.*, 1998) y de la sustancia gris periacueductal (Jolas y Aghajanian, 1997).

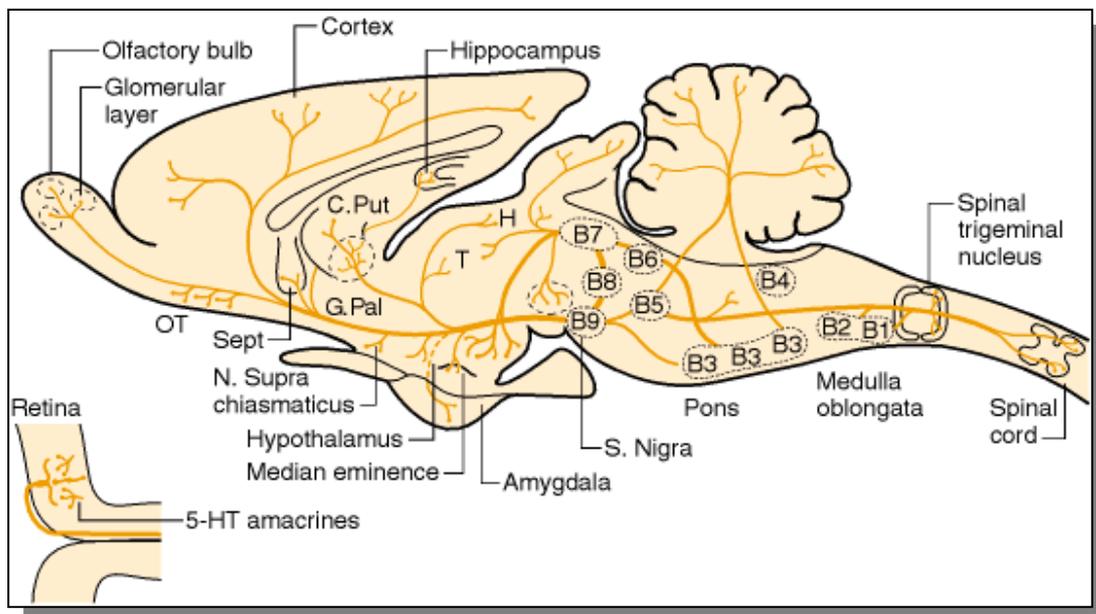
*Aferencias acetilcolinérgicas e histaminérgicas:* las primeras procedentes del núcleo vestibular superior (Kawasaki y Sato, 1981; Kalén *et al.*, 1985) y las segundas del núcleo arcuato y del núcleo dorsomedial del hipotálamo (Steinbusch y Mulder, 1984).

### 3.3.2 Eferencias

Las eferencias del sistema 5-HT se dividen en dos grupos en función a sus áreas de inervación (figura 7):

#### 1) Ascendentes

Las proyecciones ascendentes se dirigen al cerebro anterior y la mayoría proceden del grupo rostral, concretamente del NDR y del NMR (Fuxe, 1965; Olsten y Seiger, 1972). Se ha descrito que las proyecciones ascendentes están divididas, a su vez, en dos haces situados en posición dorsal y ventral (Azmitia y Henriksen, 1976; Azmitia y Segal, 1978).



**Figura 7.** Representación de un corte sagital de cerebro de ratona mostrando la localización de los núcleos serotoninérgicos según la clasificación de Dahlström y Fuxe (1964) así como de las principales proyecciones de los mismos. Modificado de Frazer y Hensler (1994).

Haz dorsal: compuesto a su vez de cuatro haces o tractos:

- i) Tracto cortical del rafe dorsal. Fibras que inervan la corteza frontal y temporoparietal, así como el caudado putamen.
- ii) Tracto periventricular del rafe dorsal. Fibras que provienen de la parte ventral del acueducto cerebral e inervan el tálamo y el hipotálamo.
- iii) Tracto arcuato del rafe dorsal. Fibras que inervan la SN, el núcleo geniculado y el núcleo supraquiasmático del hipotálamo.

- iv) Tracto medial del rafe. Fibras que provienen del NDR y del NMR y que inervan el núcleo interpeduncular y los cuerpos mamilares.

Haz ventral: dividido a su vez en dos haces o tractos:

- i) Tracto del rafe dorsal. Sus fibras inervan estructuras laterales del cerebro anterior: ganglios basales, núcleo accumbens y corteza piriforme.
- ii) Tracto del rafe medial. Inervan estructuras mediales del cerebro anterior: septum, hipocampo y corteza cingulada (para revisión ver Azmitia y Segal, 1978; Jacobs y Azmitia, 1992).

## 2) Descendientes

Estas proyecciones se dirigen hacia el tronco del encéfalo y la médula espinal y provienen de los núcleos 5-HT del grupo caudal, concretamente del *Nucleus raphe obscurus*, del *Nucleus raphe pallidus* y del *Nucleus raphe magnus* (para revisión ver Jacobs y Azmitia, 1992).

### 3.4 La neurona serotoninérgica

Atendiendo a su tamaño y árbol dendrítico, las neuronas serotoninérgicas son diversas (Steinbusch, 1984). Estudios de trazado anterógrado muestran que las neuronas 5-HT del NDR y del NMR presentan terminaciones axónicas morfológicamente distintas en la corteza cerebral: los axones de las neuronas del NDR son finos (0.2-1.25  $\mu\text{m}$  de diámetro), con varicosidades de pequeño diámetro (granulares o fusiformes), están ampliamente ramificados y presentan un elevado número de terminaciones (denominadas de tipo D); por el contrario, las fibras del NMR poseen axones de mayor diámetro (1.0-2.1  $\mu\text{m}$ ), contienen varicosidades esféricas voluminosas y presentan un menor número de terminales (tipo M) (Kosofsky y Molliver, 1987; Wilson y Molliver, 1991). Funcionalmente se han detectado diferencias entre las fibras de ambos núcleos. Así, las fibras de tipo D parecen ser más vulnerables a la acción de toxinas que liberan 5-HT como la paracloroanfetamina (PCA), la 3,4-metilendioxianfetamina (MDA) y la 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA) (Mamounas y Molliver, 1988; O'Hearn *et al.*, 1988; Molliver y Molliver, 1990; Blier *et al.*, 1990; Harvey *et al.*, 1993).

### 3.4.1 Fisiología

#### *Mecanismos de regulación intrínsecos de las neuronas 5-HT*

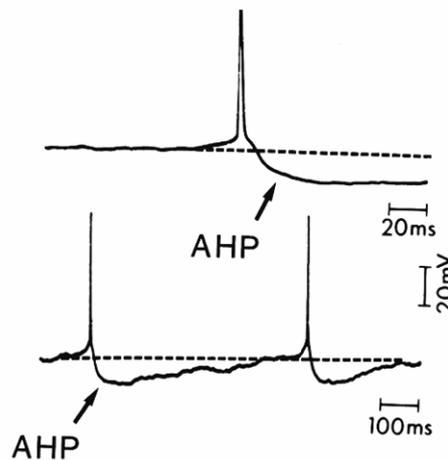
En la rata anestesiada las neuronas 5-HT de los NR se caracterizan por tener un patrón de descarga lento (0.4-3.5 Hz en la mayoría de los casos) y regular (Aghajanian *et al.*, 1987; Adell *et al.*, 2001). La duración total de la espiga es de 2-5 ms aproximadamente (Aghajanian y VanderMaelen, 1982; VanderMaelen y Aghajanian, 1983). La responsable del largo período refractario de las neuronas serotoninérgicas y de la regularidad del patrón de descarga es una corriente de salida de K<sup>+</sup> dependiente de Ca<sup>2+</sup> de corta duración (Aghajanian, 1985) (Figura 8). Posteriormente se han descrito neuronas 5-HT con un patrón de descarga de mayor complejidad, incluyendo descargas en ráfagas (Hajós *et al.*, 1995, 1996; Hajós y Sharp, 1996, 1997).

Se ha intentado correlacionar los cambios en la actividad de las neuronas 5-HT con las variaciones en la liberación del neurotransmisor y su concentración extracelular en función de los estados de actividad. En este sentido, se ha observado que en animales despiertos existen diferencias en la liberación terminal de 5-HT en función del ciclo día-noche (Auerbach *et al.*, 1989; Wilkinson *et al.*, 1991; Rueter y Jacobs, 1996). También se ha descrito que los niveles extracelulares de 5-HT son máximos durante el estado de actividad, disminuyendo progresivamente hasta el mínimo durante los estados de sueño que no son REM (*Rapid Eye Movement*) (Portas y Mccarley, 1994).

#### *Autoinhibición por receptores 5-HT<sub>1A</sub>*

Los autoreceptores 5-HT<sub>1A</sub> se encuentran localizados en neuronas 5-HT a nivel somatodendrítico (Kia *et al.*, 1996a; Riad *et al.*, 2000) donde ejercen un potente control de su actividad. Sin embargo, no parece que este control sea tónico, sino que los autoreceptores funcionarían como sensores que responden a un exceso en 5-HT endógena (Adell *et al.*, 2002a). Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> están acoplados a proteínas G del subtipo G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub> y provocan una hiperpolarización debida a un incremento en la conductancia de K<sup>+</sup>, reduciendo la frecuencia de descarga (Aghajanian y Lakoski, 1984; Sprouse y Aghajanian, 1986, 1987; Sinton y Fallon, 1988) así como la síntesis

de 5-HT y su liberación en áreas somatodendríticas y terminales (Hjorth y Magnusson, 1988; Hutson *et al.*, 1989 Sharp *et al.*, 1989b; Hjorth y Sharp, 1991; Invernizzi *et al.*, 1991; Bonvento *et al.*, 1992; Adell *et al.*, 1993; Kreiss y Lucki, 1994; Bosker *et al.*, 1994; Adell y Artigas, 1998; Casanovas *et al.*, 2000).



**Figura 8.** Representación del registro intracelular de una neurona 5-HT del NDR a 2 escalas distintas de tiempo. El tiempo se representa en el eje de abscisas mientras que el voltaje se representa en el eje de ordenadas. Se puede observar la larga duración del potencial de acción y del período refractario (AHP). Tomado de Aghajanian *et al.*(1987).

#### *Mecanismos de regulación extrínsecos de las neuronas 5-HT*

Tanto las neuronas 5-HT como NA están inactivas durante el sueño REM. Se sabe que la activación de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos localizados en los somas de las neuronas 5-HT ejercen una acción tónica sobre su actividad eléctrica (Svensson *et al.*, 1975; Baraban y Aghajanian, 1980a, 1980b). La mayor influencia de este control noradrenérgico se da durante el estado de vigilia (Levine y Jacobs, 1992), y parece ser el responsable del mecanismo generador del patrón de descarga regular de las neuronas 5-HT. Además de los receptores  $\alpha_1$ , los NR son los que tienen una de las mayores densidades de adrenoreceptor  $\alpha_2$  (Strazielle *et al.*, 1999). Los receptores  $\alpha_2$  actúan como autoreceptores en terminales NA pero también se encuentran como heteroreceptores en terminales no NA que inervan los NR.

La actividad serotoninérgica también está controlada por receptores dopaminérgicos D1 y D2. Se ha demostrado que la activación de ambos receptores ejerce un efecto excitatorio sobre la actividad de las neuronas 5-HT. Sin embargo existe poca densidad de receptores D1 y D2 en el NDR y el NMR, por lo que los efectos excitatorios se explican por la activación de receptores situados en otras estructuras cerebrales (Adell *et al.*, 2002a; Martín-Ruiz *et al.*, 2001).

Por otra parte, existe un fuerte control GABAérgico de las neuronas 5-HT, no sólo por las interneuronas de los NR, sino también de la sustancia gris periacueductal y de diversas zonas distales. Existen pocas neuronas GABAérgicas dentro de los NR, la mayoría se localizan en las cercanías de ambos núcleos (Serrats *et al.*, 2003). Este control inhibitorio parece más importante en el NDR que en el NMR (Tao y Auerbach, 2003) y se realiza a través de la activación de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> (Gallager y Aghajanian, 1976; Innis y Aghajanian, 1987; Abellan *et al.*, 2000a). Los receptores GABA<sub>A</sub> están localizados en el cuerpo celular de las neuronas 5-HT mientras que los GABA<sub>B</sub> tienen una localización dual, en el cuerpo celular (donde comparten el mismo mecanismo efector que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> - un canal de K<sup>+</sup>-), y en interneuronas GABAérgicas (Wang *et al.*, 1992; Serrats *et al.*, 2003) o terminales GABAérgicos procedentes de otras estructuras (Wang *et al.*, 1976; Wang y Aghajanian, 1977; Kalén *et al.*, 1989). En estas dos últimas localizaciones funcionaría como un autorreceptor evitando la liberación de GABA (Innis *et al.*, 1988; Waldmeier *et al.*, 1988; Abellan *et al.*, 2000b). Parece que los receptores GABA<sub>A</sub> inhiben tónicamente la actividad de las neuronas 5-HT del NDR ya que la infusión de antagonistas como bicuculina o picrotoxina producen aumentos muy marcados de los niveles extracelulares de 5-HT (Tao *et al.*, 1996; Tao y Auerbach, 2000). No es el caso de los receptores GABA<sub>B</sub>.

Finalmente, las neuronas 5-HT expresan receptores ionotrópicos del glutamato (iGluR) NMDA y AMPA/KA. Estos receptores controlan la actividad 5-HT tanto en el NDR como del NMR, pero no de forma tónica (Tao y Auerbach, 1996; Tao *et al.*, 1997; Tao y Auerbach, 2000).

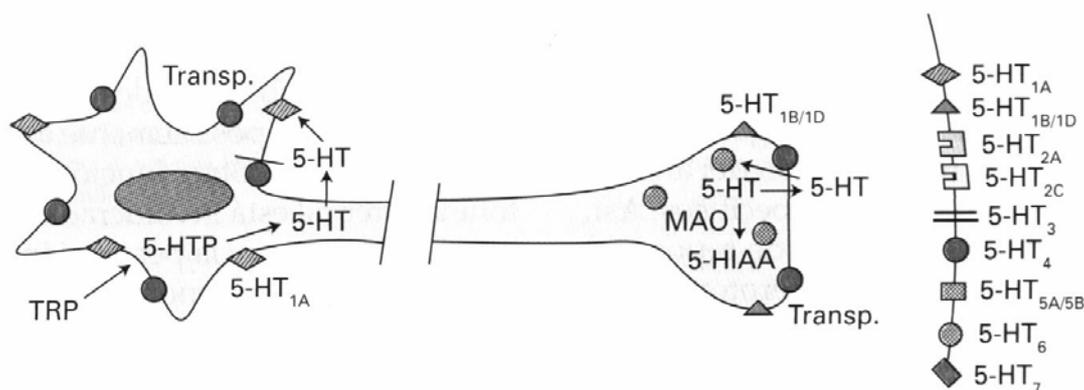
### 3.4.2 Aspectos presinápticos

#### 1) Síntesis y almacenamiento de 5-HT

La 5-HT únicamente se sintetiza en las células enterocromafines, en la glándula pineal (donde sirve de precursor de la melatonina) y en las neuronas 5-HT. La síntesis comienza a partir del aminoácido esencial L-triptófano (L-Trp) procedente de la sangre. En el cerebro, la disponibilidad de L-Trp está condicionada por su fijación a la albúmina plasmática, que impide su transporte a través de la barrera hematoencefálica y evita que en condiciones fisiológicas el transportador se sature. Así, ligeros cambios en la concentración del aminoácido en sangre provocan cambios en la síntesis de 5-HT. Una vez en el interior de las células el paso limitante es el enzima triptófano hidroxilasa (TPH), que transforma el L-Trp en 5-hidroxitriptófano (5-HTP). El siguiente y último paso lo realiza el enzima descarboxilasa de los L-aminoácidos aromáticos (DLAA), que transforma el 5-HTP en 5-HT (figura 9).

En ciertas condiciones la 5-HT es capaz de autorregular su síntesis. Así, tenemos que un incremento en la concentración de 5-HT tiene como consecuencia una inhibición de su síntesis (Hamon *et al.*, 1973). En cambio, la administración del inhibidor de la TPH, p-clorofenilalanina (PCPA), incrementa los niveles del ARNm de dicha enzima (Cortés *et al.*, 1993). Por otra parte, la estimulación eléctrica de las neuronas 5-HT incrementa la síntesis del neurotransmisor, y dicho incremento es proporcional a la frecuencia de estimulación (Hamon y Glowinski, 1974).

Tras su síntesis la 5-HT puede ser almacenada en vesículas sinápticas o bien degradada por la monoamino oxidasa (MAO), enzima mitocondrial encargado del primer paso de la degradación de las monoaminas. En el caso de ser almacenada, la 5-HT entra en las vesículas a través de un transportador vesicular sensible a reserpina y tetrabenacina (Erickson *et al.*, 1992). Una vez en el interior de la vesícula, la 5-HT permanece unida a una proteína específica denominada en inglés *serotonin binding protein* o SBP (Gershon *et al.*, 1983).



**Figura 9.** Esquema de una neurona 5-HT en la que se representan los procesos de síntesis y degradación del neurotransmisor, así como su recaptación por el transportador y su actuación sobre receptores pre y postsinápticos.

## 2) Liberación, recaptación y degradación

La 5-HT se libera al espacio sináptico con la llegada de un impulso eléctrico. Dicho impulso provoca una entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de canales dependientes de voltaje, así como el anclaje de las vesículas sinápticas a la membrana celular. La consecuencia es un proceso de exocitosis de 5-HT y demás sustancias contenidas en las vesículas. Este proceso es sensible a tetrodotoxina (Sharp *et al.*, 1990). Se ha demostrado que un incremento o disminución en la frecuencia de descarga de las neuronas 5-HT se traduce en un incremento o una reducción, respectivamente, en la liberación del neurotransmisor en áreas de proyección (Sharp *et al.*, 1989a, 1989b; Jolas *et al.*, 1993; McQuade y Sharp, 1995, 1997; Matos *et al.*, 1996).

Además de esta liberación sináptica se ha descrito la existencia de una fracción no vesicular de 5-HT, independiente de  $\text{Ca}^{2+}$  y dependiente de  $\text{Na}^+$ , insensible a tetrodotoxina (Rudnick y Wall, 1992) y modulable farmacológicamente por p-cloroanfetamina (Kühn *et al.*, 1985; Adell *et al.*, 1989b). Se ha sugerido que esta liberación se realiza a través del transportador de 5-HT ya que ésta es sensible a los inhibidores de la recaptación de 5-HT (Maura *et al.*, 1982).

Una vez liberada, la 5-HT puede activar receptores pre- y postsinápticos o ser recaptada mediante su transportador específico (figura 9), siendo éste el principal mecanismo para regular su concentración extracelular y su disponibilidad para activar receptores. El transportador se localiza en áreas ricas en cuerpos y terminaciones 5-HT (Azmitia, 1981; Fuxe *et al.*, 1983; Hrdina *et al.*, 1990; Qian *et al.*, 1995), así como en células gliales (Katz y Kimelberg, 1985; Kimelberg y Katz, 1985).

Una vez recaptada a través del transportador es desaminada por la MAO a 5-hidroxiindolacetaldehído, siendo éste oxidado a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) por un aldehído deshidrogenasa dependiente de NAD. El 5-HIAA es el principal metabolito de la 5-HT en el cerebro, y es eliminado mediante transporte activo por los plexos coroideos y las células parenquimales cerebrales (figura 9).

### 3.5 Receptores de serotonina

En los últimos 15 años se han caracterizado un número importante de receptores para la 5-HT contabilizándose en estos momentos 14 subtipos diferentes, lo que hace del sistema 5-HT uno de los que cuentan con mayor número de receptores (Tabla 2; para revisión ver Hoyer *et al.*, 1994). Excepto el receptor 5-HT<sub>3</sub>, que forma un canal iónico y pertenece, por tanto, a la familia de receptores ionotrópicos (Peters *et al.*, 1992), todos los demás receptores de 5-HT pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G (receptores metabotrópicos), que también incluye a los receptores dopaminérgicos y adrenérgicos. Todos los miembros de esta familia tienen una estructura con siete dominios transmembranales, el extremo amino-terminal en el exterior de la membrana celular y el extremo carboxi-terminal en el interior.

#### *Receptores 5-HT<sub>1</sub>*

Hasta ahora se han descrito 5 subtipos de receptor 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>, que están acoplados negativamente a la adenilato ciclasa a través de proteínas G<sub>i/o</sub> (Hoyer *et al.*, 1994).

Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> tienen una localización dual: en primer lugar en el cuerpo de las neuronas 5-HT, donde actúan como autorreceptores, y en segundo lugar postsinápticamente, preferentemente en estructuras límbicas (hipocampo, septum, corteza, tálamo y amígdala) (Pazos y Palacios, 1985; Vergé *et al.*, 1985; Miquel *et al.*, 1991; Pompeiano *et al.*, 1992; Kia *et al.*, 1996b). Las áreas más enriquecidas en este receptor son el NDR, el NMR y la formación hipocampal.

Los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> son también autoreceptores. Se localizan principalmente en terminales sinápticos de áreas de proyección, evitando de forma local la liberación de 5-HT a través de la inhibición de la adenil ciclasa (Hoyer y Schoeffter, 1988; Hjorth y Tao, 1991; Riad *et al.*, 2000). También se localizan en los NR

controlando la activación celular y el exceso de 5-HT (al igual que los receptores 5-HT<sub>1A</sub>; Adell *et al.*, 2001) aunque esto no se ha podido corroborar histológicamente, probablemente porque se encuentra en bajas cantidades. También existen evidencias de que los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> funcionan como heteroreceptores en terminales de neuronas no serotoninérgicas, controlando la liberación de otros neurotransmisores como acetilcolina o glutamato (Maura *et al.*, 1986), y esta localización parece ser la mayoritaria para el receptor (Manrique *et al.*, 1994; Compan *et al.*, 1998).

La distribución y función del resto de receptores de tipo 1 (5-ht<sub>1E</sub> y 5-ht<sub>1F</sub>) se conoce mucho menos debido a la falta de radioligandos selectivos. El receptor 5-ht<sub>1E</sub> se identificó inicialmente en homogenados de corteza humana (Leonhardt *et al.*, 1989) y tiene una distribución parecida a la de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Miller y Teitler, 1992). El ARNm del receptor 5-ht<sub>1F</sub> se ha encontrado en NDR, corteza (cingulada y entorrinal), hipocampo, estriado y, en menor grado, en tálamo e hipotálamo (Adham *et al.*, 1993; Lovenberg *et al.*, 1993), y se le ha adjudicado también un papel como autoreceptor.

### *Receptores 5-HT<sub>2</sub>*

Hasta ahora se han identificado 3 subtipos de receptores 5-HT<sub>2</sub>: 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>. Está establecido que su activación produce un aumento en la hidrólisis de fosfoinosítidos y movilización de Ca<sup>2+</sup> a través de la fosfolipasa C tras la activación inicial de una proteína G<sub>q</sub> (De Chaffoy *et al.*, 1985; Doyle *et al.*, 1986).

Los receptores 5-HT<sub>2A</sub> se encuentran ampliamente distribuidos en la corteza, pero también se localizan, aunque en menor grado, en el claustró, algunas áreas del sistema límbico, principalmente en el núcleo olfatorio, y en zonas de los ganglios basales (Pazos *et al.*, 1985).

Tabla 2. Receptores serotoninérgicos cerebrales. Subtipos y farmacología.

Receptor	Localización Preferente	Agonistas selectivos	Antagonistas selectivos	Segundos mensajeros
5-HT <sub>1A</sub>	DRN, Sistema límbico, Corteza entorrinal, N. Interpeduncular, Hipotálamo, Médula espinal	8-OH-DPAT Buspirona	WAY 100635 Pindolol	AMPC (-) Canal de K <sup>+</sup>
5-HT <sub>1B</sub>	Sustancia negra, G. Pálido, Colículo superior, Rafe	CP 93129 CGS 12066	SB 224289 Cianopindolol	AMPC (-)
5-HT <sub>1D</sub>	Sustancia negra, G. Pálido, Estriado, N. Subtalámico, Amígdala, Rafe	Sumatriptan L 694247	GR 127935 SB 224289	AMPC (-)
5-ht <sub>1E</sub>	Ganglios basales, Cortex, Hipocampo	5-CT	Metiotepina	AMPC (-)
5-ht <sub>1F</sub>	Hipocampo, Tronco del encéfalo (nervios craneales), Núcleo interpeduncular, Cerebelo	5-CT	Metiotepina	AMPC (-)
5-HT <sub>2A</sub>	Corteza, Claustro, Estriado, Bulbo olfatorio	$\alpha$ -metil-5-HT DOB DOI DOM	MDL 100907 Espiperona Ketanserina Ritanserina	IP <sub>3</sub> /DG
5-HT <sub>2C</sub>	Plexos coroideos, Estriado, Tronco del encéfalo, Hipocampo, Hipotálamo	$\alpha$ -metil-5-HT DOI	Mesulergina SB 242084	IP <sub>3</sub> /DG
5-HT <sub>3</sub>	Núcleos del tronco del encéfalo: area postrema, núcleo del tracto solitario, Médula espinal	$\alpha$ -metil-5-HT <i>m</i> -clorofenil- biguanida	Granisetron Ondansetron Tropisetron	Canal iónico
5-HT <sub>4</sub>	Tubérculo olfatorio, Estriado, G. Pálido, Sustancia negra, Hipocampo	Metoclopramida Renzapride	GR 113808 SB 204070	AMPC (+)
5-ht <sub>5</sub> (5-ht <sub>5A</sub> y 5-ht <sub>5B</sub> )	(ARN mensajero) Corteza, Hipocampo, Habénula, Cerebelo, Tubérculo olfatorio, Rafe	---	Metiotepina	---
5-ht <sub>6</sub>	(ARN mensajero) Estriado, Tubérculo olfatorio, Corteza, Hipocampo, N. Accumbens	---	Metiotepina SB271046	AMPC (+)
5-HT <sub>7</sub>	(ARN mensajero) Tálamo, Hipotálamo, Hipocampo, Septum, Corteza, Colículo superior, Rafe	---	Metiotepina SB258719	AMPC (+)

El receptor 5-HT<sub>2B</sub> se encuentra sobretodo en tejidos periféricos donde media, por ejemplo, la contracción de la musculatura lisa (Kursar *et al.*, 1992). En el cerebro de rata se ha detectado muy poca cantidad (Foguet *et al.*, 1992).

Los receptores 5-HT<sub>2C</sub>, anteriormente denominados 5-HT<sub>1C</sub>, se encuentran en altas densidades en los plexos coroideos (Palacios *et al.*, 1986). También se han detectado en otras regiones como el sistema límbico y áreas asociadas a la actividad motora, así como en corteza frontal y piriforme, núcleo olfatorio, habénula lateral y núcleo subtalámico, y también en el NDR (Pazos *et al.*, 1985; Clemett *et al.*, 2000), aunque en menor proporción que en los plexos coroideos.

### *Receptores 5-HT<sub>3</sub>*

Este es el único receptor 5-HT conocido que forma un canal iónico dependiente de ligando (Derkach *et al.*, 1989). Se trata de un pentámero con una estructura análoga a la de los receptores nicotínicos, GABA<sub>A</sub> y de glicina con 4 dominios transmembranales. Se clonó en 1991 y ya desde los inicios se caracterizó por su rápida desensibilización y sus efectos farmacológicos despolarizantes en neuronas entéricas y sensoriales del sistema periférico (Maricq *et al.*, 1991). Posteriormente se describieron dos subunidades, la 5-HT<sub>3A</sub> y la 5-HT<sub>3B</sub>, aunque en SNC sólo se ha detectado la subunidad A, que forma homómeros. La activación de este receptor produce una rápida despolarización debido a la apertura de canales de cationes permeables a Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> (Wallis y Elliot, 1991).

Los receptores 5-HT<sub>3</sub> se encuentran exclusivamente asociados a neuronas, tanto en el SNC como en el sistema nervioso periférico (Waeber *et al.*, 1989). Las densidades más elevadas en el SNC se encuentran en el complejo dorsal del vago y núcleo espinal trigeminal, el área postrema, el núcleo del tracto solitario y la sustancia gelatinosa a todos los niveles de la espina dorsal. Densidades más bajas se encuentran en la corteza (principalmente en corteza cingulada, entorrinal y piriforme) y áreas del sistema límbico (amígdala e hipocampo) (para revisión ver Kilpatrick *et al.*, 1987 y Morales y Bloom, 1997). Estudios farmacológicos sugieren un papel antiemético, ansiolítico y antipsicótico de estos receptores en el SNC, así como la participación en procesos cognitivos y en el síndrome de abstinencia (Staubli y Xu, 1995; Higgins y Kilpatrick, 1999; Sirota *et al.*, 2000).

Periféricamente, se encuentran en neuronas autónomas pre y postganglionarias y en neuronas del los sistemas sensoriales y entéricos. La activación de estos receptores afecta al sistema cardiovascular, respiratorio, gatrointestinal y nervioso, donde produce dolor y sensibilización de neuronas nociceptivas, y también acentúa los efectos de las náuseas y vómito asociados con quimioterapia y radioterapia para el tratamiento del cáncer (para revisión ver Hamon, 1992).

#### *Receptores 5-HT<sub>4</sub>, 5-ht<sub>5</sub>, 5-ht<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub>*

El receptor 5-HT<sub>4</sub> se ha identificado en una gran variedad de tejidos y especies. A nivel del SNC las densidades más elevadas se encuentran en las áreas del sistema límbico (tubérculo olfatorio y núcleo accumbens), estriado, globo pálido y sustancia negra (Grossman *et al.*, 1993). La presencia en estas zonas, además de localizarse en hipocampo y colículos, sugiere que pueda estar involucrado en desórdenes afectivos, psicosis, coordinación motora, percepción motora, percepción visual, estados de activación y en aprendizaje y memoria. La activación del receptor 5-HT<sub>4</sub> produce una estimulación de la adenilato ciclasa y aumento de los niveles de AMPc, que son los que median las respuestas celulares.

En 1992 se clonó el receptor 5-ht<sub>5A</sub> y al año siguiente se clonó el 5-ht<sub>5B</sub>. No existen evidencias claras de que estos receptores sean funcionales en tejido cerebral. No se conoce ni su función ni los mecanismos transduccionales, aunque se han detectado ambos ARNm en el cerebro. En concreto, en rata se ha detectado ARNm del receptor 5-ht<sub>5A</sub> en corteza, hipocampo, amígdala, septum y tálamo, y el del 5-ht<sub>5B</sub> en el NDR, hipocampo y habénula (Erlander *et al.*, 1993; Serrats *et al.*, 2004). Su farmacología es comparable a la de los receptores 5-HT<sub>1D</sub>.

El receptor 5-ht<sub>6</sub> está acoplado positivamente a la adenilato ciclasa a través de proteínas G<sub>s</sub> (Schoeffter y Waeber, 1994). La relación filogenética con el resto de receptores 5-HT es lejana. Se ha detectado su ARNm en cerebro, destacando su presencia en estriado, hipocampo, corteza y tubérculo olfatorio. Se ha relacionado a este receptor con la neurotransmisión colinérgica. Su elevada afinidad por antipsicóticos y antidepresivos y la presencia de su ARNm en zonas corticales y límbicas sugieren que podría estar relacionado con trastornos psiquiátricos que implican al sistema serotoninérgico.

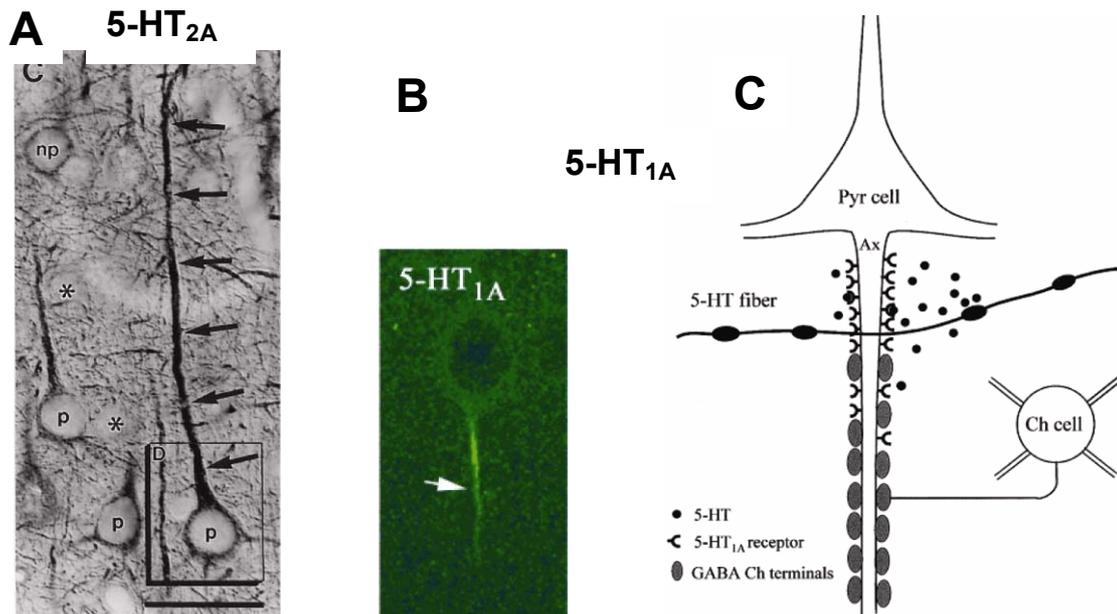
Finalmente, el receptor 5-HT<sub>7</sub> está acoplado positivamente a la adenilato ciclasa a través de proteínas G<sub>s</sub> y tiene también baja homología con el resto de receptores 5-HT. Se han descrito 4 isoformas pero en rata sólo encontramos 3. Su ARNm se expresa en cerebro de rata, en concreto en el tálamo, hipotálamo, corteza, hipocampo, *taenia tecta* y amígdala. No está clara su función fisiológica pero se ha relacionado con el comportamiento afectivo ya que responden farmacológicamente a algunos antidepresivos y antipsicóticos (Roth *et al.*, 1994; Sleight *et al.*, 1995).

### **3.5.1 Receptores serotoninérgicos en la corteza prefrontal medial**

Las neuronas de la CPF expresan múltiples receptores serotoninérgicos, siendo los más abundantes los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> (Pazos y Palacios, 1985, Pazos *et al.*, 1985; Pompeiano *et al.*, 1992, 1994).

#### *Receptores 5-HT en neuronas piramidales*

Las neuronas piramidales de la CPFm expresan receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> (Willins *et al.*, 1997; Jakab y Goldman-Rakic, 1998; De Felipe *et al.*, 2001). Los receptores 5-HT<sub>2A</sub> se localizan preferentemente en la dendrita apical (Jakab y Goldman-Rakic, 1998; Xu y Pandey, 2000; figura 10A). Los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, sin embargo, estarían más extendidos por el soma y las dendritas basales (Kia *et al.*, 1996a; Riad *et al.*, 2000), aunque también se ha descrito una localización más específica en el cono axonal, una región estratégicamente importante para el control de la excitabilidad piramidal (Azmitia *et al.*, 1996; De Felipe *et al.*, 2001; figura 10B y C). Esta controversia surge por la existencia de anticuerpos que tienen distintos sitios de unión al receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Por otra parte, estudios electrofisiológicos *in vitro* e *in vivo* que sugieren la colocalización de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (hiperpolarizantes) y 5-HT<sub>2A</sub> (despolarizantes) en las mismas neuronas piramidales (Araneda y Andrade, 1991; Ashby *et al.*, 1994).



**Figura 10.** Localización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub> en distintos segmentos de las neuronas piramidales de corteza. A) Inmunoreactividad para el receptor 5-HT<sub>2A</sub> en la dendrita apical (Jakab y Goldman-Rakic, 1998). B) Inmunoreactividad para el receptor 5-HT<sub>1A</sub> en el cono axonal (De Felipe *et al.*, 2001). C) Esquema que representa la posible localización de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y GABA<sub>A</sub> en el cono axonal de las neuronas piramidales así como la acción paracrina de la 5-HT en la corteza (De Felipe *et al.*, 2001).

La activación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> causa un aumento en la excitabilidad piramidal, y se ha propuesto que este efecto genera un incremento local de glutamato y la consiguiente activación de receptores AMPA-KA (Aghajanian y Marek, 1997, 2000; Lambe *et al.*, 2000). A pesar de la gran densidad de receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados en las dendritas apicales de las neuronas piramidales, se ha sugerido, por experimentos de lesiones talámicas y estudios farmacológicos, que los efectos excitadores sobre dichas neuronas piramidales se producen gracias a una población de receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados en terminales talámicos (Marek y Aghajanian, 1998; Marek *et al.*, 2001).

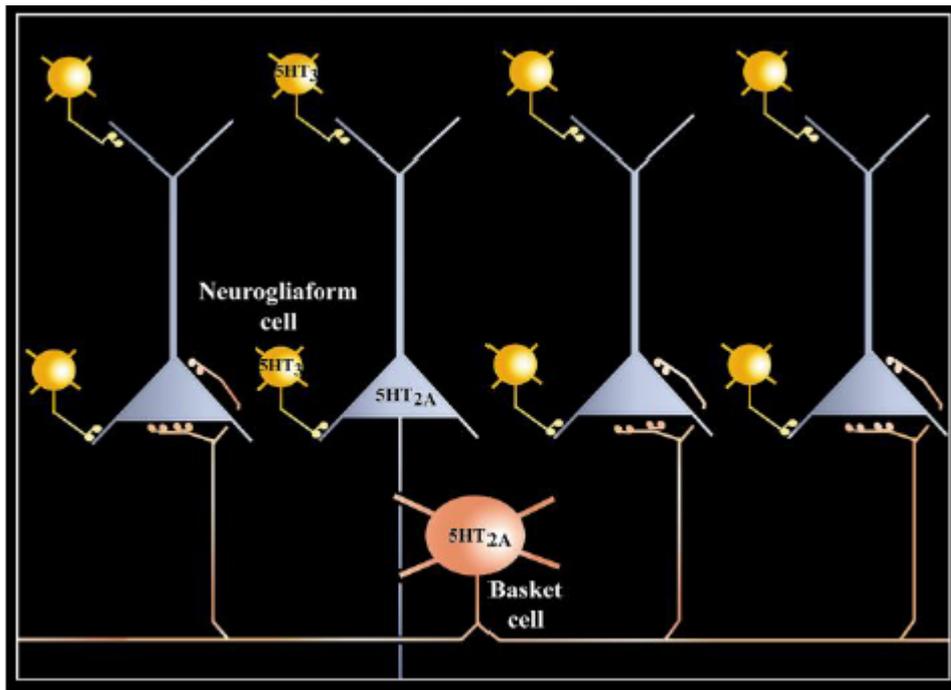
Por otra parte, agonistas no selectivos del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, como LSD o DOI, son alucinógenos mientras que compuestos que actúan como antagonistas (así como agonistas 5-HT<sub>1A</sub>) son antipsicóticos atípicos (Kroeze y Roth, 1998; Meltzer, 1999). Recientemente se ha relacionado al receptor 5-HT<sub>2A</sub> localizado en la corteza prefrontal con la memoria de trabajo (*working memory*; Williams *et al.*, 2002) y se

han asociado distintos alelos con la capacidad memorística en humanos (De Quervain *et al.*, 2003). A su vez, los receptores 5-HT<sub>1A</sub> están implicados en ansiedad (Heisler *et al.*, 1998; Parks *et al.*, 1998) y aprendizaje, y se ha visto que antagonistas 5-HT<sub>1A</sub> revierten déficits cognitivos inducidos por el consumo de drogas (Harder y Ridley, 2000; Mello y Negus, 2001; Misane y Ogren, 2003). Todas estas observaciones, junto con el hecho de que existen alteraciones en receptores 5-HT en el lóbulo frontal de pacientes psiquiátricos (Arango *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 2000; Gurevich *et al.*, 2002), inducen a pensar que el bloqueo de estos receptores corticales puede ser beneficioso en el tratamiento de enfermedades psiquiátricas severas.

#### *Receptores 5-HT en interneuronas GABAérgicas*

Estudios de microscopía electrónica señalan que las neuronas 5-HT del cerebro medio inervan células neocorticales no piramidales (DeFelipe *et al.*, 1991; Smiley y Goldman-Rakic, 1996). A su vez, se sabe que las interneuronas GABAérgicas de corteza expresan distintos tipos de receptores para la 5-HT, destacando los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>3</sub> (Willins *et al.*, 1997; Morales y Bloom, 1997; Jakab y Goldman-Rakic, 1998, 2000; Jansson *et al.*, 2001).

Tal y como se mostró en el esquema del microcircuito básico de corteza (figura 5), las neuronas piramidales contienen distintos segmentos, muy especializados, que son funcionalmente controlados por distintas interneuronas GABAérgicas. Jakab y Goldman-Rakic (2000), describen que, al menos en cerebro de macaco, existe una especialización anatómica y funcional de las interneuronas que expresan los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>3</sub>: los receptores 5-HT<sub>2A</sub> se detectan en interneuronas en cesto de tamaño medio y grande que expresan PV y CB y están especializadas en la inhibición perisomática de las neuronas piramidales y los 5-HT<sub>3</sub> se encuentran en interneuronas pequeñas que expresan CB y medianas que expresan CR, dos tipos de interneuronas con forma neuroglial que preferentemente controlan las dendritas de las neuronas piramidales (figura 11).



**Figura 11.** Esquema de la localización de interneuronas GABAérgicas que expresan los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>3</sub> en la corteza prefrontal de macaco, donde controlarían distintos segmentos de las neuronas piramidales (tomado de Jakab y Goldman-Rakic, 2000).

Entre el 75 y 95 % de las células que expresan el receptor 5-HT<sub>3</sub> en el telencéfalo son GABAérgicas. Estas interneuronas están presentes en todas las capas corticales aunque preferentemente en las capas II/III y, en menor proporción, en la V/VI (Morales y Bloom, 1997). Sin embargo, el receptor 5-HT<sub>2A</sub> se expresa tanto en interneuronas GABAérgicas como en neuronas piramidales. La presencia de estos receptores en interneuronas GABAérgicas corticales se pone de manifiesto en trabajos realizados tanto *in vitro* como *in vivo*, en los que la aplicación tanto de agonistas 5-HT<sub>2</sub> como 5-HT<sub>3</sub> producen una inhibición de las neuronas piramidales (Zhou y Hablitz, 1999; Ashby *et al.*, 1989, 1991). Finalmente, se ha descrito mediante técnicas de registro intracelular que las interneuronas que expresan el receptor 5-HT<sub>3</sub> coexpresan CCK y VIP, se excitan con serotonina y agonistas nicotínicos, y descargan de forma regular o irregular pero nunca de forma rápida (Férezou *et al.*, 2002).