



**MODULACIÓ DELS SISTEMES
AMINÈRGICS DEL MESENCÈFAL PELS
RECEPTORS DE SEROTONINA 5-HT_{2A} I
5-HT_{1A}. RELACIÓ AMB ELS FÀRMACS
ANTIPSIÒTICS**

Tesi Doctoral presentada per

Llorenç Díaz Mataix

Barcelona, gener de 2006

**TREBALL PRESENTAT PER A OPTAR AL GRAU DE DOCTOR EN
FARMÀCIA PER LA UNIVERSITAT DE BARCELONA, PROGRAMA DE
DOCTORAT DE NEUROCIÈNCIES (Departament de Biologia Cel·lular i
Anatomia Patològica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona).**

**DEPARTAMENT DE NEUROQUÍMICA
INSTITUT D' INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA (IIBB)
INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES AUGUST PI I SUNYER (IDIBAPS)
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)**

Els directors:

**Dra. M^a Pau Celada Pedrosa
Investigadora Ramón y Cajal
CSIC**

**Dr. Francesc Artigas i Pérez
Professor d' Investigació
CSIC**

**Signat: Llorenç Díaz Mataix
Barcelona, octubre 2005**

El present treball ha estat finançat amb els següents projectes:

1. Control de la actividad de las neuronas aminérgicas (5-HT y NA) por la corteza prefrontal . CICYT SAF 2001-2133.
2. Noves estratègies terapèutiques en el transtorn depressiu major. Fundació La Marató de TV3. 2001
3. Circuitos de control de las neuronas serotoninérgicas y su regulación por antidepresivos. Estudios preclínicos y clínicos
Fondo de Investigación Sanitaria, 01/1147
4. Papel de la corteza prefrontal en la fisiopatología de la esquizofrenia y acción terapéutica de los fármacos antipsicóticos. SAF 2004-05525

I ha estat realitzat amb el suport econòmic de la següent beca predoctoral:

“Beca de Formació de Personal Investigador Institut d’Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).

A Fina i a Lorenzo

AGRAÏMENTS

Acaben cinc anys, i el resultat d'aquests cinc anys estan en aquest llibret, sembla poc, no!!! En aquest anys he après moltes, moltes coses i he tingut moltes vivències, per això ara que s'obri una nova etapa en la meua feina i en la meua vida m'agradaria agrair a tota la gent que ha fet possible que arribe aquest moment.

Als meus directors de tesi: a Paco, vas confiar en mi des de el primer moment i em vas obrir les portes de la ciència ara fa cinc anys quan va arribar aquell valencià que "era molt treballador". M'has ensenyat a pensar com pensen els científics i a més tens la facultat de fer fàcil i entenable algo tant complicat com és el cervell. Moltes gràcies pel teu entusiasme contagiós ,per les teues ganades de treballar i pels teus ànims quan jo ho veia tot negre...

A Pau, per la teua paciència en mi, ja saps que soc molt nerviós!!! Mai oblidaré que sense tu i el teu esperit crític no seria possible aquesta tesi. Tu m'has ensenyat l'electrofisiologia i a ser pacient i meticulós. Moltes gràcies.

A tots els "antics" components del grup que em vau acollir quan vaig arribar a Barcelona. A Raúl i a Luz, vosotros me llevasteis de la mano en los primeros experimentos de microdiálisis, me ayudasteis en la adaptación al laboratorio y a Barcelona, muchas gracias.

Analía, no se como darte las gracias. Parte de esta tesis es tuya, muchas gracias: porque no conozco a nadie más que disfrute tanto con su trabajo y que además lo haga tan bien, pero sobre todo por toda la ayuda y la gran amistad que me has brindado a lo largo de estos años. Te quiero mucho Poulain.

A la meua germaneta de tesi, Mercè. El laboratori era una festa només en la teua presència, ens donaves alegria a tots i quan vas marxar tots vam perdre una part de la nostra història "neuroquímica". Hem dut camins paral·lels, hem compartit moltes coses de dins i de fora del laboratori i se que en tu he trobat una amiga catalana "de l'esquerra de l'eixample" per a tota la vida. Moltes gràcies Mercè.

A Ceci, fuiste la persona más especial del laboratorio y los dos años que estuviste conmigo nunca los podré olvidar, como no podré olvidar nuestros chistes ni nuestras charlas. Me hiciste plantearme muchas preguntas sobre la ciencia y sobre la vida. Muchísimas gracias y no olvides que te debo una visita al Uruguay, Concha.

A Noe, me encanta tu inconformismo y tu eterna búsqueda de razones. No puedo imaginar estos años sin tí, con nuestra complicidad me he sentido como en casa. Muchas gracias por la oportunidad de haber compartido contigo el trabajo y la vida. Ah!!! y la bibliografía de esta tesis no sería igual sin tus "macros".

Leti, tu también formas parte de esta tesis y de estos años en Barcelona. Gracias por tener siempre a punto los HPLC's y por tus miles de horas calculando picos, pero sobre todo gracias por abrirme las puertas de tu casa y de tu familia. Las cenas en tu casa y las excursiones a Pals han sido insuperables por eso no puedo dejar de nombrar a toda la familia Campa (Montobio): Fernando, María (la más artista de toda la gente que he conocido en Barcelona), Lucía, Cecilia y Mar. Muchas gracias a todos por acojernos a todos.

Albert, encara que no hem treballat en el mateix equip, sempre has estat disponible per a ensenyar-me tots els trucs de la microdiàlisi i sempre m'has aconsellat sobre el món de la ciència. Moltes gràcies, se que sempre estaràs ahí quan et necessite.

Ara toquen les veïnes: Zoila i Iolanda, sempre tant a prop. He après molt de la vostra constància i de la vostra manera de fer. Tant diferents com sou i sempre aneu en el mateix paquet. Heu estat ahí des de sempre i serà molt difícil estar en un laboratori en el que no estiguen al costat... A més d'això em venen a la memòria les calçotades, les excursions a port aventura o a L'escala, els sopars, les inauguracions de pisos, els pippers... en fi, que voleu que vos diga: que m'ho he passat molt be!!! i espere poder seguir contant en vosaltres tota la vida. Moltes gràcies.

No em puc oblidar de la Judith, la meua tècnica d'electrofisiologia i d'histologia. És impossible agrair-te la teua eficàcia i la teua manera de treballar, amb la qualitat del teu treball has fet que la feina em fora molt més fàcil. Però no

només això en tu també he trobat una amiga en la que poder compartir moltes coses. Moltes Gràcies M. J.

I a totes les noves adquisicions: Xavi (moltes gracies per teu recolzament durant l'escriptura de la tesi), Lucila, Laia, Mónica, Pablo, hem estat poc temps junts però crec que el suficient per a saber que tot es una qüestio d'espai i de temps. Moltes gracies per la vostra ajuda en els últims temps i pel vostre companyerisme.

No em puc deixar a Andrés, Joan, Xevi, Olga, Tamara perque també heu format part de la meua vida dins del laboratori 635 (sobretot en els actes socials).

A tota la resta de la gent del departament de Neuroquímica: Lupe, Roser, Cristina, Pep, Emili, Teresa, Sebastià, Eli, Anna, Julian, Raül, Daniel, Elena, Txell, Jordi, Silvia, Susana, Ruben, Mercedes, Isabel, en els quals he compartit tants dinars a la cantina, congressos, copes de cava per qualsevol cosa a celebrar, sopars de nadal, tesis, excursions de primavera, himne de neuroquímica... Moltes gracies a tots, de tots he après alguna cosa i heu fet que aquesta etapa hagi estat una de les millors de la meua vida.

Tampoc puc deixar d'agrair a la resta de la gent que està o ha passat per l'Institut durant aquest anys: Montse Roig (que tants problemes m'ha solucionat), Carme Casal, Anna Serrano, Gemma, Patricia (gràcies pel teu optimisme i confiança), María, Emma, Ángeles, Olga, Kamil, Nacho, Abraham, Santi, Lola, Maria i Roser (per mi sou com un pack), Dani, Oriol, Rosa, Jesús, Joan, Fran, Eduard (quants malts de caps amb l'ordinador, no?), Valerie, Joe i a tots els meus companys de les juntes de l'IIBB dels divendres (ha estat un plaer coneixer com funciona tot açò per dins de la vostra ma). Segur que em deixe algú, però es que ha estat molta gent la que he conegut durant aquests anys...

A Susanna, la meua familia a Barcelona, no puc concebir aquests anys sense els quatre anys que vam passar junts al raval, gràcies per cuidar-me tant i per haver segut la meua "dona" durant aquest temps. Mai podré oblidar tot el que hem viscut junts. Et vull molt.

A la resta de la meua família barcelonina: Leti, Txell i la dolça Tona. Haver-vos trobat és de les millors coses que m'han passat. Moltes gràcies per haver-me oferit la vostra amistat i la vostra forma de ser de la qual he après tantes coses. Se que allà on estiguem vos sentiré com a casa.

A Javi perquè estos últims mesos has fet que no em senta sol i m'has ajudat a vore les coses des de un altre punt de vista. Moltes gràcies company.

Moltes gràcies també a Albert, Dani, Lluís, Llorenç per fer-me sentir tant a gust.

A Rosa, Anna, Ximo, Mónica, Ali, Cristina, Moi, Marc, David, Ramón, Eva, els anys a València van ser irrepetibles, però per sort sempre trobem algun moment en el que els podem reviuire. Moltíssimes gràcies, no haguera arribat fins ací sense la vostra empenta i els vostres consells.

A Victor, a Pepi i a Jose, els meus amics de l'ànima. Que vos dic?? Sempre heu estat ahí encara que fora per telèfon compartint totes les coses bones i no tant bones de la vida. Victor mai et podré agrair prou les teues freqüents visites a Barcelona ni les inacabables xarrades per telèfon. Vull que sapiguen que el saber que esteu m'ha ajudat molt en aquest camí. Moltes gràcies.

A tots els amics de Castalla de tota la vida: M^a Àngels, Pepe, Javi, Amanda, Fani, Ali, Laura, Adel, Isa, Eliseo, Laura, Tono, Sandra, Nuria, Rico, Belen, Rebeca, Vidal (perdoneu si m'oblido d'algú) per la vostra amistat i per ser un punt de referència per a mi.

Molt especialment vull agrair l'entusiasme que poseu en la meua faena a Dolo, M^a Carmen, Paqui, Belen, Laura P., María, Eva, Marisa, M^a José, Belter, Laura B., Begoña (mai t'estaré prou agraït de la feina que has fet en la portada d'aquesta tesi) Sabina. La vostra confiança en mi fa que cada dia vullga seguir avant i a més em contagieu d'optimisme i il·lusió. Gràcies per estar sempre ahí.

Per acabar vull dedicar unes paraules molt especials a la meua família:

Als meus tios i als meus cosins en especial a la meua padrina M^a Jesús, no conec una persona més vital, optimista i en més força que tu. Només puc dir-te que en el teu cas es veritat que una padrina es una segon mare.

Al iaio Pepe, moltes gràcies pel teu exemple i pel teu recolzament. A la Madre Chon para ver si de una vez entiende que hago algo más que estudiar. Muchas gracias por tu cariño.

Als meus germans María i Juan Pablo, perquè m'heu acompanyat durant tot aquest temps i hem pogut compartir totes les vivències bones i no tant bones que la vida ens a anat oferint. Vos vull molt. Ah i a Jordi que fa poc a passat a formar part de la nostra família.

A Soledat, segur que allà on estigues has estat cuidant de mi... Un besito.

A mi padre, el hombre más íntegro que conozco, que me ha demostrado que todas las dificultades se pueden vencer y me ha enseñado el valor del esfuerzo y de la persistencia. Gracia por haberme apoyado siempre y confiado siempre en mi.

I molt especialment a ma mare que m'ha ensenyat a viure, m'ha ensenyat l'amor per el saber i per la cultura, m'ha ensenyat a intentar ser bona persona i a ser feliç. Tu sempre has estat en mi independentment del que passara. Este treball va dedicat molt especialment a tu.

Barcelona 22 de desembre de 2005

“Aún los más humildes podemos aprovecharnos del sendero abierto por el genio y arrancar, caminando por él, algún secreto a lo desconocido”

Santiago Ramón y Cajal

Neurocientífic (1852-1934)



EL CRIT d'Eduard Munch (1893)

Aquesta pintura per a mi simbolitza l'horror que deuen sentir les persones que pateixen aquesta terrible malaltia que es diu esquizofrènia, a les quals vull dedicar especialment les xicotetes aportacions que puga fer aquesta tesi en el coneixement de la seua malaltia.

Diseny de la portada basat en un dibuix del Dr. Santiago Ramón y Cajal extret de “ La textura del sistema nervioso central de los mamíferos” (1899) en homenatge a ell en l'any que es compleixen 100 anys de la concessió del premi nobel pels seus treballs.

ÍNDEX

I INTRODUCCIÓ	1
1. L'ESQUIZOFRÈNIA	1
1.1. Fisiopatologia	3
1.2.1. Hipòtesis neuroquímiques	3
1.2.2. Altres hipòtesis	5
1.2. Farmacologia dels tractaments antipsicòtics	6
2. L'ESCORÇA PREFRONTAL	8
2.1. L'escorça prefrontal i la seua implicació en l'esquizofrènia	8
2.2. Definició anatòmica i funcional de l'escorça prefrontal	9
2.3. Citoarquitectura de l'escorça prefrontal medial	11
2.4. Neurotransmissors i receptors presents a l'EPFm	12
3. ELS NUCLIS DEL RAPE	15
4. L'ÀREA TEGMENTAL VENTRAL	16
4.1. Definició anatòmica i cel·lular de l'àrea tegmental ventral	17
4.2. Fisiologia de les neurones dopaminèrgiques de l'ATV	17
4.3. Neurotransmissors i receptors presents a l'ATV	21
4.3.1. Receptors dopaminèrgics	21
4.3.2. Receptors serotoninèrgics	22
4.3.3. Receptors noradrenèrgics	23
4.3.4. Receptors colinèrgics	23
4.3.5. Receptors gabaèrgics	24
4.3.6. Receptors glutamatèrgics	24

5. RELACIONS ANATÒMIQUES ENTRE ELS NUCLIS AMINÈRGICS DEL MESENCÈFAL I L'ESCORÇA PREFRONTAL

26

II HIPÒTESI

31

III OBJECTIUS

35

IV MATERIALS I MÈTODES

39

1. MATERIALS

41

1.1. Animals d'experimentació 41

1.2. Compostos i fàrmacs emprats 42

2. MÈTODES

43

2.1. Electrofisiologia: registres extracel·lulars *in vivo* 43

2.1.1. Anestèsia 43

2.1.2. Preparació dels animals per a l'estereotàxia 43

2.1.3. Preparació dels electrodes 44

2.1.3.1. De registre 44

2.1.3.2. D'estimulació 44

2.1.4. Preparació de cànules per a l'administració local de fàrmacs 45

2.1.5. Registre uni – extracel·lular 45

2.1.5.1. Característiques del laboratori 45

2.1.5.2. Registre de neurones dopaminèrgiques de l'ATV 47

2.1.5.3. Registre de neurones piramidals de l'EPFm 47

2.2. Microdiàlisi intracerebral <i>in vivo</i>	48
2.3. Transeccions corticals	50
2.4. Lesions talàmiques	50
2.5. Histologia	51
2.6. Anàlisi estadística de les dades	52

V RESULTATS **55**

Treball 1 57

In Vivo modulation of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex by 5-HT_{2A} receptors: relationship to thalamocortical afferents

Treball 2 73

In vivo modulation of 5-hydroxytryptamine release in mouse prefrontal cortex by local 5-HT_{2A} receptors: effect of antipsychotic drugs

Treball 3 87

The activation of 5-HT_{2A} receptors in prefrontal cortex enhances dopaminergic activity

Treball 4 101

Activation of pyramidal cells in rat medial prefrontal cortex projecting to ventral tegmental area by a 5-HT_{1A} receptor agonist.

Treball 5 113

Involvement of 5-HT_{1A} receptors in prefrontal cortex in the modulation of dopaminergic activity. Role in atypical antipsychotic action.

Treball 6	129
<i>In vivo</i> actions of aripiprazole on serotonergic and dopaminergic systems in rodent brain.	

VI DISCUSSIÓ

165

1. PAPER DELS RECEPTOR 5-HT_{2A}	167
1.1. Modulació del sistema serotoninèrgic	167
1.2. Modulació del sistema dopaminèrgic	169
1.3. Modulació del efecte del DOI per fàrmacs antipsicòtics	170
2. PAPER DELS RECEPTORS 5-HT_{1A}	171
3. ANTIPSICÒTICS ATÍPICS I RECEPTORS 5-HT_{1A}	175

VII CONCLUSIONS

179

VIII BIBLIOGRAFIA

183