

I. INTRODUCCIÓ

1. ESQUIZOFRÈNIA

L' esquizofrènia és un trastorn cerebral crònic, greu i incapacitant que afecta l' 1% de la població i s' expressa en forma de funcions mentals anormals i alteracions en el comportament. És un dels problemes de salut mental més importants i representa més d' un 2 % del cost sanitari als EUA. Els primers episodis de la malaltia es manifesten típicament a la joventut o a l' inici de l' edat adulta, després d' un pròdrom que pot començar a la infància (en general els pacients esquizofrènics han estat nens amb problemes d' adaptació: escolars, familiars i de relació), i persisteixen, en la majoria de casos, tota la vida, seguint una progressiva deterioració clínica (Lewis i Lieberman, 2000; figura 1).

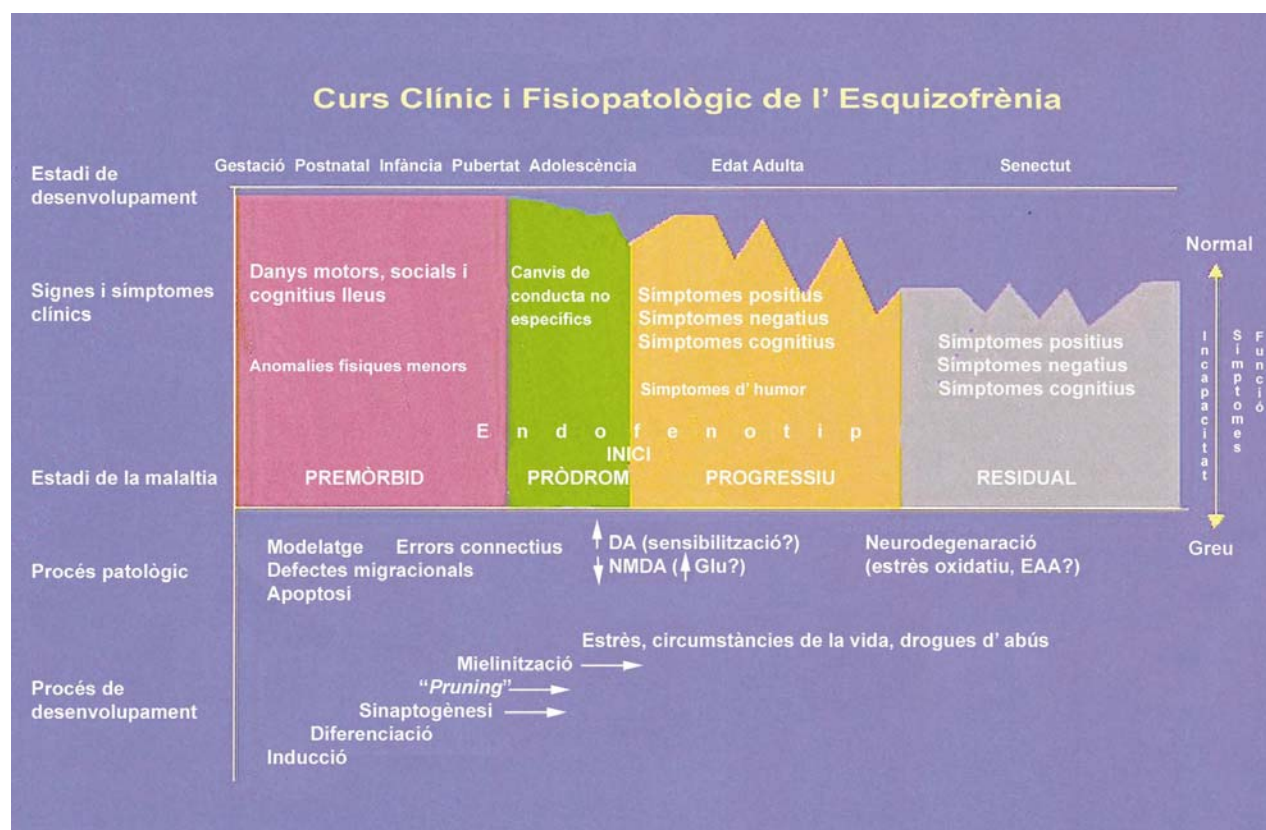


Figura 1. Esquema representatiu del curs clínic i fisiopatològic de l' esquizofrènia (modificat de Lewis i Lieberman, 2000).

La simptomatologia esquizofrènica és múltiple i heterogènia. A grans trets, podem distingir tres classes de manifestacions clíniques:

1. Síntomes positius, psicòtics, amb al·lucinacions (percepcions sensorials falses sobretot de tipus auditiu), falses creences, dèficits en processar i avaluar informació, així com desorganització del pensament.
2. Síntomes afectius/negatius amb pèrdua de motivació, apatia, desinterès social, i higiene personal i domèstica descurada.
3. Síntomes cognitius amb greus problemes d'atenció, realització de funcions executives, i de memòria (en especial la memòria operativa o de curt termini "working memory"). Aquests canvis juguen un paper clau en els trastorns del comportament i la incapacitat funcional característics dels pacients esquizofrènics.

Molts pacients esquizofrènics presenten també de manera simultània simptomatologia depressiva i d'ansietat que contribueix al 10 % d'incidència de suïcidi al llarg de la vida.

1.1. Etiologia

La causa de l'esquizofrènia és desconeguda, ara bé, la vulnerabilitat de patir aquesta malaltia psiquiàtrica està clarament relacionada amb factors genètics (Tsuang, 2000). Així, la incidència de l'esquizofrènia d'un 1 % en la població general es converteix en un 2 % en parents de tercer grau (cosins germans), d'un 2 a 6 % en parents de segon grau (nebots, néts) i d'un 6 a 17 % en parents de primer grau (pares, fills, germans). Entre bessons, la incidència de l'esquizofrènia és d'un 17 % en bessons dizigòtics, i d'aproximadament 50 % en monozigòtics (Gottesman, 1991).

Després d'anys de recerca d'un sol gen causant de l'esquizofrènia, avui en dia s'accepta que és una malaltia poligènica. Recentment s'ha relacionat l'esquizofrènia amb l'expressió anòmala del gen de la neuregulina 1 (NRG1), proteïna implicada en l'expressió i activació de receptors de neurotransmissors com ara el glutamat (Stefansson *et al.*, 2002; vegeu apartat 1.2.5.).

Els factors ambientals com ara exposició a infeccions, afeccions autoimmunes, tòxiques o traumàtiques, tensió nerviosa (potent activador de vies glutamatèrgiques corticals), durant la gestació o infantesa, salut de la mare, complicacions en el naixement, entre d'altres, podrien també estar implicats en la patogènesi de l'esquizofrènia, potser mitjançant alteracions subtils en el neurodesenvolupament. A

més, processos de maduració com ara l'apoptosi i la mielinització presents des del període postnatal fins a l'adolescència podrien emascarar la vulnerabilitat genètica de patir esquizofrènia (Lewis i Lieberman, 2000; Moghaddam, 2003).

Per tant, en l'etiologia de l'esquizofrènia trobem múltiples afeccions, factors genètics i ambientals, que es manifesten durant el desenvolupament de determinats circuits cerebrals. Ara bé, a diferència d'altres trastorns genètics del neurodesenvolupament com la síndrome de Down o traumes gestacionals greus i de naixement com la hipòxia fetal, no hi ha manifestacions immediates evidents de la malaltia. D'aquesta manera, la majoria de pacients no presenten alteracions del seu comportament fins que no entren en el període de risc més elevat, final de la segona i tercera dècades de vida, quan sol aparèixer el primer episodi psicòtic.

L'1 % d'incidència de l'esquizofrènia es manté de forma regular entre cultures, països, grups racials i gèneres. No obstant això, hi ha algunes excepcions que recolzen la participació dels prèviament esmentats possibles factors etiològics. Estudis realitzats en els dos hemisferis han mostrat un modest excés de naixements en els mesos d'hivern i primavera entre malalts esquizofrènics, tot i que observacions semblants s'han fet també per trastorns depressius. També s'adverteix una tendència per part d'individus amb esquizofrènia a pertànyer a un nivell socio-econòmic baix i a determinades poblacions immigrants i urbanes. Cal destacar també que tot i que pateixen la malaltia igual nombre d'homes i dones, algunes dades suggereixen que en el cas del gènere masculí s'observen unes manifestacions més greus del trastorn; inici de 2-4 anys abans, alteracions neuropatològiques més marcades i menor resposta terapèutica (Lewis i Lieberman, 2000).

1.2. Fisiopatologia i models animals d'esquizofrènia

Amb el temps han sorgit diferents hipòtesis de l'esquizofrènia basades en un seguit d'evidències: anatomopatològiques, genètiques, histològiques, de neuroimatge i neuroquímiques de dades obtingudes de models animals d'esquizofrènia. D'aquesta manera les diverses hipòtesis han donat lloc a l'estructuració de models animals com a eines de treball per a estudiar la malaltia.

És evident la dificultat de reproduir en l' animal d' experimentació una simptomatologia tan variada i psicològicament complexa com és la de l'esquizofrènia i per aquest motiu, sovint, s' intenta reproduir mitjançant diferents mètodes, els diversos grups de símptomes que presenta aquesta malaltia així com la seva resposta als fàrmacs emprats per al seu tractament. L' aproximació més habitual per a desenvolupar models animals ha estat explorar els efectes de drogues o fàrmacs que produeixen símptomes tipus esquizofrènia en individus sans. Aquests models tenen en general certa validesa predictiva i constructiva.

Per tal de validar aquests models animals sovint s' ha avaluat el fenomen de la inhibició pre-puls de la resposta al sobresalt (*pre-pulse inhibition* o PPI) ja que aquesta s' ha vist alterada en pacients esquizofrènics (Geyer i Moghaddam, 2002). La PPI està basada en el fet que un dèbil senyal presentat abans que l' estímul de sobresalt redueix o bloqueja l' amplitud de la resposta de sobresalt, no requereix d' aprenentatge o d' instruccions de comprensió i totes les evidències disponibles recolzen la idea que la PPI d' humans i rosegadors és homòloga. Es creu que un dèficit de la PPI reflecteix alteracions en els circuits tàlamo-corticals implicats en la resposta sensorimotora.

A continuació es descriuen les diferents hipòtesis que existeixen a l' actualitat fent una comparació amb els models animals establerts.

1.2.1. Hipòtesi dopaminèrgica

Durant aproximadament tres dècades, la hipòtesi més acceptada sobre la fisiopatologia de l' esquizofrènia ha estat la que postula un excés d' activitat dopaminèrgica (vegeu Carlsson, 1988). Aquesta hipòtesi està basada en dues observacions principals. En primer lloc, l' abús de drogues psicoestimulants, com les amfetamines i la cocaïna, substàncies que incrementen la neurotransmissió dopaminèrgica, poden causar una psicosi semblant als símptomes positius de l' esquizofrènia en individus sans o exacerbar els símptomes psicòtics en pacients esquizofrènics. En aquest sentit, dades de neuroimatge indiquen que els pacients esquizofrènics presenten, de mitjana, una major alliberació estriatal de dopamina (DA) induïda per una dosi d' amfetamina respecte als individus control (Laruelle *et al.*, 1996). En segon lloc, els antipsicòtics convencionals, que durant quasi 50 anys han representat la base del tractament, comparteixen la seva capacitat d'

antagonitzar els receptors de la dopamina D2 (Seeman *et al.*, 1975) i la seva afinitat per aquests receptors està altament correlacionada amb la seva potència clínica en millorar la psicosi. Fins i tot els fàrmacs antipsicòtics de segona generació, que presenten més afinitat per receptors serotoninèrgics, necessiten exercir un cert bloqueig dels receptors D2 per a la seva activitat terapèutica.

Un refinament posterior de la hipòtesi dopaminèrgica postula una hiperactivitat de la neurotransmissió dopaminèrgica en la via mesolímbica (suposadament responsable de la simptomatologia positiva) i una disminució de la neurotransmissió dopaminèrgica a l'escorça prefrontal (EPF; via mesocortical) que contribuiria als danys cognitius i als símptomes negatius (Jaskiw i Weinberger, 1987; Davis *et al.*, 1991).

El model animal d'esquizofrènia induït per fàrmacs més àmpliament estudiat ha estat basat, per tant, en els efectes de comportament de drogues psicoestimulants com les amfetamines. Tot i que aquests models tenen certa validesa predictiva en preveure l'eficàcia del tractament, ara sembla que l'inicial "similitud aparent" hagi portat a conclusions errònies. De fet, la hipòtesi dopaminèrgica clàssica ha evolucionat, fent més èmfasi en el paper del sistema dopaminèrgic mesolímbic. En canvi, el sistema dopaminèrgic nigroestriatal és molt important pels efectes secundaris discinètics del tractament antipsicòtic. El sistema mesolímbic seria el responsable dels efectes d'activació locomotora de baixes dosis d'amfetamina, mentre el sistema nigroestriatal de les estereotípies que predominen a altes dosis (Creese, 1983). Els pacients esquizofrènics generalment no presenten una hiperactivitat motora generalitzada o estereotípies, així que la hiperactivitat induïda per dosis baixes d'amfetamines, sembla que rarament mimetitza el trastorn humà. Aquestes diferències han fet disminuir la utilització d'aquest model en recerca.

Els agonistes dopaminèrgics directes (apomorfina) i indirectes (D-amfetamina i cocaïna) alteren la PPI en rosegadors (Geyer *et al.*, 1999). Aquest trastorn induït per l'apomorfina és revertit tant pels antipsicòtics clàssics, la qual cosa reforça el paper jugat pels receptors D₂ (només en ratolins genoanul.lats, "knockout"-KO-, d'aquest receptor no trobem efectes d'amfetamina sobre la PPI, vegeu apartat 1.2.5.) com els atípics (clozapina, olanzapina, quetiapina) i es correlaciona fortament amb la seva potència clínica (Ralph *et al.*, 1999).

S' ha intentat demostrar una excessiva activació dels receptors D2 en estudis postmortem així com amb tomografia d' emissió de positrons (PET) sense trobar resultats concloents (Lewis i Lieberman, 2000). Per altra part, s' ha descrit una més elevada densitat de receptors dopaminèrgics D1 corticals, associada amb un dèficit cognitiu dels pacients (Abi-Dargham *et al.*, 2002), encara que aquestes dades no han estat reproduïdes (Karlsson *et al.*, 2002). Per tant, una possible interpretació seria que l' activació excessiva dels receptors D2 estaria associada més probablement amb els símptomes positius i no amb els negatius i cognitius (Laruelle *et al.*, 1999).

Malgrat les nombroses evidències que impliquen la neurotransmissió dopaminèrgica, sembla dubtós que un únic canvi en la DA pugui originar l' àmplia simptomatologia esquizofrènica. A més, els efectes singulars de la clozapina, un dèbil antagonista dels receptors D₂ que redueix els símptomes negatius i potencia la funció cognitiva (Brunello *et al.*, 1995), juntament amb el fet que els antipsicòtics atípics (vegeu apartat 3.1.) siguin igualment efectius pel que fa a la simptomatologia positiva, bloquejant principalment els receptors serotoninèrgics 5-HT_{2A} (Meltzer, 1999), recolzen la idea de la implicació addicional d' altres sistemes de neurotransmissió en la fisiopatologia de l' esquizofrènia.

1.2.2. Hipòtesi serotoninèrgica

La hipòtesi serotoninèrgica de l' esquizofrènia es basa en les semblances existents entre els efectes que la droga al·lucinògena LSD (dietilamida de l' àcid lisèrgic) i altres compostos anàlegs tenen sobre percepció i labilitat afectiva, i els símptomes dels primers estadis de psicosi (Bowers i Freedman, 1966). L' interès inicial pels al·lucinògens va sorgir de la possibilitat que alteracions bioquímiques portessin a la producció endògena de compostos al·lucinògens responsables dels símptomes psicòtics. En aquest sentit, la hipòtesi de la transmetilació sosté que la 5-HT proporcionaria un substrat per a la producció endògena de substàncies al·lucinògenes com el DMT (N,N-dimetiltriptamina) (Weil-Malherbe i Szara, 1971).

Estudis recents comparant estats psicòtics induïts per al·lucinògens (gran alteració de la percepció, l' humor i la cognició) amb estats inicials de trastorns psicòtics han confirmat una gran superposició entre les dues síndromes (Gouzoulis-Mayfrank *et al.*, 1998). Ara bé, hi ha dues diferències importants per les quals

sembla que aquest tipus de drogues no proporcionin un model útil d' esquizofrènia (Hollister, 1968; Weil-Malherbe i Szara, 1971):

1. Ràpida tolerància desenvolupada en efectes subjectius de drogues tipus LSD, mentre que els símptomes d' esquizofrènia duren tota la vida.
2. Al·lucinacions per LSD i drogues associades són sobretot visuals, mentre que l' esquizofrènia es caracteritza per al·lucinacions auditives.

Aquestes dues observacions disminueixen la validesa predictiva del model al·lucinogen del síndrome de l' esquizofrènia. No obstant, indicacions recents d' una alteració serotoninèrgica present en l' esquizofrènia (Joyce *et al.*, 1993) i la implicació del receptor serotoninèrgic 5-HT_{2A} en l' eficàcia clínica dels antipsicòtics atípics (Meltzer *et al.*, 1989) han fet ressorgir l' interès en la possibilitat que aquestes drogues siguin psicomimètiques o psicògenes, i d' aquesta manera, tinguin importància com a models de determinats aspectes dels episodis psicòtics en humans. Actualment, es creu que els al·lucinògens, entre ells els derivats amfetamínics com DOI (droga emprada en els treballs 1 i 2), DOB, DOM, produeixen els seus efectes actuant com a agonistes 5-HT_{2A} (Glennon *et al.*, 1984; Nichols, 2004). L' activació dels receptors 5-HT_{2A} de l' EPFm (escorça prefrontal medial) per l' administració sistèmica de DOI incrementa la freqüència de descàrrega de les neurones piramidals i de les serotoninèrgiques, mentre que la seva administració a l' EPFm augmenta l' alliberament local de 5-HT (Martín-Ruiz *et al.*, 2001; Puig *et al.*, 2003). La majoria dels nous antipsicòtics atípics són potents antagonistes 5-HT_{2A}, a més de presentar afinitat per altres receptors serotoninèrgics com 5-HT_{1A}, 5-HT₆ i 5-HT₇ (Meltzer *et al.*, 1989; Meltzer, 1999 ; Millan, 2000 ; Ichikawa *et al.*, 2001 ; Roth *et al.*, 2004), posant de manifest la possibilitat d' un mecanisme no dopaminèrgic responsable del tractament de l' esquizofrènia i proporcionant un gran suport a la validesa predictiva del model al·lucinogen de l' esquizofrènia.

Així, l' estudi de l' acció dels al·lucinògens proporcionaria models animals útils; els efectes de comportament induïts per aquestes drogues són revertits per antagonistes 5-HT_{2A}, inclosos alguns antipsicòtics, i els efectes de trastorn de la PPI per al·lucinògens, agonistes del receptor 5-HT₂, són inhibits per l' antagonista selectiu 5-HT_{2A} M100907 i no per l' antagonista dopaminèrgic haloperidol (Meltzer *et al.*, 1989; Geyer, 1998).

La validesa constructiva d' aquest model està basada en les evidències que tant els símptomes de l' esquizofrènia com els efectes dels al·lucinògens reflecteixen unes respostes exagerades a estímuls sensorials i cognitius, possiblement fruit de dèficits en processar i filtrar la informació (Geyer i Moghaddam, 2002).

1.2.3. Hipòtesi glutamatèrgica

El glutamat és el principal neurotransmissor excitador en el cervell dels mamífers i és utilitzat en el 40 % del total de les sinapsis. Dins les regions cerebrals implicades en l' esquizofrènia destaquen els sistemes corticals frontals, el sistema límbic, els ganglis basals i el tàlem. Les connexions recíproques cortico-corticals, cortico-límbiques i les projeccions cortico-talàmiques són únicament glutamatèrgiques. El glutamat és doncs el neurotransmissor a través del qual la informació es transfereix dins i entre les regions esmentades.

L' administració aguda dels anestèsics dissociatius, fenciclidina (PCP; “*angel dust* - pols d' àngel” o *peace pill* - píndola de la pau), ketamina i dizocilpina (MK-801), tots ells antagonistes no competitiu del receptor glutamatèrgic N-metil-D-aspartat (NMDA) (Javitt i Zukin, 1991), en dosis subanestèsiques, originen símptomes psicòtics, negatius i disfuncions cognitives en individus sans i exacerben les manifestacions ja existents en malalts esquizofrènics (Krystal *et al.*, 1994; Moghaddam, 2003). De la mateixa manera, en animals de laboratori, aquestes drogues psicotomimètiques produeixen un complex perfil de comportament comparable als efectes d' aquestes drogues en humans. S' ha descrit que els antagonistes NMDA interfereixen amb la memòria operativa i altres funcions cognitives les alteracions de les quals estan associades amb l' esquizofrènia (Aultman i Moghaddam, 2001) i també indueixen quadres de tipus psicòtic i alteracions en el comportament social, hiperactivitat i dèficits en el model de la PPI entre d' altres que es reverteixen per antipsicòtics atípics (Abi-Saab *et al.*, 1998; Olney *et al.*, 1999; Tsai i Coyle, 2002; Geyer *et al.*, 2001). D' altra banda, ratolins amb un nombre reduït de receptors NMDA presenten un comportament molt semblant a l' induït per PCP (Mohn *et al.*, 1999; vegeu apartat 1.2.5.). Així, l' administració d' antagonistes NMDA s' usa de manera rutinària com a model animal farmacològic de l' esquizofrènia, i presenta alguns avantatges respecte als altres

models farmacològics, entre els quals destaca que aquest és l'únic model animal que té un paral·lelisme clínic. A diferència d'altres models farmacològics com ara els models d'amfetamina i cannabinoides, amb una sola exposició a PCP o ketamina ja es pot expressar un quadre psicòtic i un dèficit cognitiu en individus sans durant algunes hores o inclús dies (Bakker i Amini, 1961). Per tant, l'exposició aguda a aquests compostos està considerada una eina farmacològica útil per tal de produir alguns aspectes de la simptomatologia esquizofrènica en animals de laboratori. Un altre aspecte important del model d'antagonisme NMDA és que la psicosi originada per PCP o ketamina no respon al tractament dels antipsicòtics clàssics (Burns i Lerner, 1976; Malhotra *et al.*, 1997; Moghaddam i Jackson, 2003) a diferència dels models monoaminèrgics, tot i que trobem certa controvèrsia a la literatura sobre aquest punt (vegeu Discussió). Per tant, aquest model és especialment vàlid per avaluar l'efectivitat dels antipsicòtics atípics i de nous fàrmacs pel tractament de l'esquizofrènia. S'ha proposat també l'administració repetida de PCP com a model útil per alguns aspectes de l'esquizofrènia (Jentsch *et al.*, 1997). Tot i que aquest model no té cap efecte sobre la PPI, a diferència dels models aguts, produeix un dany cognitiu permanent que és de gran importància en la simptomatologia esquizofrènica.

En general, el fet que els antagonistes NMDA mimetitzin certs aspectes de la malaltia ha fet pensar en un dèficit de neurotransmissió glutamatèrgica cortical com a responsable de la simptomatologia. Aquesta hipòtesi està reforçada per estudis que descriuen una disminució en el metabolisme de la glucosa a l'EPF, és a dir, una hipoactivitat cortical, en pacients depressius i esquizofrènics amb simptomatologia negativa/afectiva (Andreasen *et al.*, 1997; Drevets, 2001; Potkin *et al.*, 2002) que concorden també amb la hipoactivitat dopaminèrgica cortical postulada per Weinberger (vegeu apartat 1.2.1.). Altres estudis que donen suport a aquesta hipòtesi de disminució de la transmissió glutamatèrgica mostren una disminució en la unió a subunitats dels receptors del glutamat NMDA, àcid α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiònic (AMPA) i kaïnàt, i una disminució també en l'expressió de les subunitats d'aquests receptors del glutamat en nuclis talàmics, hipocamp i EPF lateral dorsal de pacients esquizofrènics (Ibrahim *et al.*, 2000; Gao *et al.*, 2000). Estudis recents, però, han posat de manifest una hiper glutamatèrgia i una hiperdopaminèrgia cortical i subcortical després de l'administració aguda d'

antagonistes NMDA (Moghaddam *et al.*, 1997; Yan *et al.*, 1997; Svensson *et al.*, 1998; Moghaddam i Adams, 1998; Mathé *et al.*, 1999). Aquestes observacions han estat recolzades per estudis d'electrofisiologia que han mostrat un increment de l'activitat (freqüència de descàrrega) de les neurones piramidals glutamatèrgiques de l'EPF en models animals on s'han injectat antagonistes NMDA, increment relacionat amb el desenvolupament d'anomalies de comportament com hiperlocomoció (Suzuki *et al.*, 2002; Jackson *et al.*, 2004). D'aquesta manera, es produiria un increment de la sortida cortical, tot i que de manera desorganitzada, deixant palesa la importància de la transmissió glutamatèrgica pel que fa a la integritat funcional de l'EPF. Aquests resultats estan, per tant, en clara contradicció amb l'observat en pacients esquizofrènics amb simptomatologia negativa i aquesta controvèrsia del paper del glutamat a l'esquizofrènia s'ha posat recentment de manifest (Moghaddam, 2003). Endemés, altres estudis d'electrofisiologia han mostrat també un increment de la freqüència de descàrrega de les neurones dopaminèrgiques de l'àrea tegmental ventral (ATV; Pawlowski *et al.*, 1990).

La implicació del glutamat en l'esquizofrènia també està recolzada per altres raons. L'esquizofrènia sembla tenir un component del neurodesenvolupament i el receptor NMDA és crític en conduir els axons als seus objectius en aquesta etapa. Per altra part, els receptors NMDA serien importants en els processos que porten a l'eliminació selectiva d'axons col·laterals (*pruning*) observada a l'adolescència, i que ha estat hipotetitzada de ser anormal a l'esquizofrènia. La funcionalitat cognitiva depèn de la plasticitat mitjançada en part pels receptors NMDA, i els pacients esquizofrènics sovint mostren dèficits cognitius. Finalment, s'ha suggerit que la reducció de la matèria gris d'algunes regions cerebrals present en l'esquizofrènia podria ser el resultat de neurotoxicitat mitjançada pels receptors NMDA (Meador-Woodruff i Kleinman, 2002).

Cal indicar que aquesta hipòtesi glutamatèrgica és integradora i per tant, és a la vegada compatible amb les hipòtesis monoaminèrgiques ja que existeixen moltes connexions recíproques entre aquests sistemes de neurotransmissió (Carlsson i Carlsson, 1990; Peyron *et al.*, 1998; Sesack *et al.*, 2003). Així s'ha vist que l'administració sistèmica d'aquests antagonistes NMDA a més d'incrementar l'alliberació de glutamat i DA, també incrementa l'alliberació de serotonina (5-HT) a l'EPFm (Martin *et al.*, 1998) i al nucli accumbens (NAc; Yan *et al.*, 1997).

1.2.4. Hipòtesi del neurodesenvolupament

Una de les teories amb més bona acceptació a l'actualitat és la que considera l'esquizofrènia com una alteració del neurodesenvolupament, conseqüència d'un càrrega genètica encara poc coneguda i possibles danys perinatals com hipòxia i infeccions virals entre d'altres. Aquests canvis alterarien la plasticitat cerebral per a respondre a determinats estímuls, originant conductes mal adaptades, fins arribar al moment que un estímul d'una intensitat superior desencadenaria el quadre psicòtic inicial (Lewis i Lieberman, 2000).

S'han desenvolupat diversos models animals basats en la teoria del neurodesenvolupament que consisteixen en la producció de lesions neuronals en estadis perinatals primerencs mitjançant neurotoxines. El model animal més ben caracteritzat d'aquesta classe és, sens dubte, el proposat per Barbara Lipska i Daniel Weinberger (Lipska i Weinberger, 1993; Lipska i Weinberger, 1995), basat en la lesió excitotòxica (àcid ibotènic) de l'àrea CA1 de l'hipocamp ventral (VCA1) a P7 (dia post-natal 7). Aquesta lesió de l'hipocamp estaria considerada com un potencial model d'esquizofrènia perquè s'han vist diferents canvis funcionals i estructurals en aquesta regió en pacients esquizofrènics (Weinberger, 1999). La lesió neonatal de l'hipocamp interrompia el desenvolupament dels circuits corticals i subcorticals en els que l'hipocamp participa, anul·lant l'entrada de l'hipocamp a l'EPF (àrea prefrontal) produint d'aquesta manera una alteració dràstica d'aquests circuits cortico-límbics. En particular, les lesions afectarien VCA1 i el subiculum ventral (SV), regions de l'hipocamp que projecten directament a l'EPF i a l'ATV, origen de les vies dopaminèrgiques mesolímbica i mesocortical (Jay et al., 1989; Carr i Sesack, 1996). Aquestes regions corresponen a l'hipocamp anterior en humans que presenta anomalies anatòmiques en l'esquizofrènia (Suddath et al., 1990). Ara bé, malgrat que la lesió inicial es fa a l'hipocamp, les alteracions cel·lulars i funcionals presents a l'edat adulta es troben a l'EPF i àrees relacionades anatòmicament.

A l'inici de l'edat adulta, els animals lesionats presenten un patró de comportament alterat possiblement relacionat amb un increment de la transmissió dopaminèrgica mesolímbica i nigroestriatal, com ara una resposta incrementada a l'estrès, antagonistes NMDA (PCP i MK-801) i agonistes dopaminèrgics, dèficits en la PPI, trastorns en la memòria operativa i alteracions neuroquímiques semblants a les trobades en pacients esquizofrènics. Així mateix, els antipsicòtics normalitzen certs

d' aquests comportaments induïts per la lesió (Lipska, 2004). S' han estudiat diversos efectes d' aquesta lesió sobre les neurones de l' EPF i una de les observacions més destacables és l' increment de les accions excitadores de la DA sobre les neurones piramidals de l' EPF dels animals lesionats (O' Donnell *et al.*, 2002). La lesió transitòria mitjançant tetrodotoxina a l' hipocamp (Lipska *et al.*, 2002) és també eficaç en produir les esmentades alteracions que, d' altra banda, no es produeixen quan les toxines s' administren a l' edat adulta.

Un altre model d' aquesta classe consisteix en l' administració perifèrica de l' endotoxina bacteriana del lipopolisacàrid (LPS) en rates gestants. Aquest tractament prenatal produeix a la descendència una alteració del sistema immunitari i un dèficit en la PPI revertit també per antipsicòtics (Borrell *et al.*, 2002).

1.2.5. Hipòtesi genètica

Tot i que la causa de l' esquizofrènia és desconeguda, diversos estudis suggereixen que l' esquizofrènia té un important component genètic (Cardno *et al.*, 1999; Tsuang *et al.*, 2001).

A més dels models farmacològics i de neurodesenvolupament, recentment han sorgit els models d' animals modificats genèticament. Tenint en compte la implicació del receptor NMDA en la fisiopatologia de l' esquizofrènia, gens que codifiquin o regulin qualsevol de les nombroses proteïnes que influencien la funció del receptors NMDA podrien convertir-se en gens susceptibles de la malaltia i entre aquests, s' ha identificat el gen de la neuregulina 1 (NRG1; present en el cromosoma 8) com a un possible gen candidat per l' esquizofrènia (Stefansson *et al.*, 2002; Petryshen *et al.*, 2004). La NRG1 regula l' expressió de subunitats dels receptors de glutamat i activa directament el receptor ErbB4 (Ozaki *et al.*, 1997), membre de la família ErbB de les tirosinquinases que colocalitza amb el receptor NMDA. Així, ratolins mutants heterozigots per la NRG1 o pel seu receptor, ErbB4, mostren una mala adaptació a l' entorn, alteració de la PPI i hiperlocomoció, similar als animals tractats amb antagonistes NMDA (models animals d' esquizofrènia; Stefansson *et al.*, 2002). Endemés, aquests ratolins presenten una funcionalitat més baixa dels receptors NMDA respecte als ratolins control.

Un altre model d'importància per l'etiologia i fisiopatologia de l'esquizofrènia és el dels ratolins genominvats NMDAR1 (expressió de la subunitat NR1 reduïda un 95%) o *knock-down* (Mohn *et al.*, 1999). Aquests ratolins són hiperactius i presenten estereotípies, greus alteracions en les interaccions socials i sexuals, així com una disminució de la PPI; revertit per clozapina. Aquest és un model interessant que podria contribuir al coneixement dels efectes a llarg termini de la hipofunció congènita del receptor NMDA, tot i que no s'han trobat anormalitats genètiques ni postmortem en la subunitat NR1 dels receptors NMDA ni s'ha observat en aquests ratolins reaccions de comportament als antagonistes NMDA.

Finalment, també s'han emprat ratolins modificats genèticament per tal de provar hipòtesis específiques importants pels models animals d'esquizofrènia. Per exemple, encara que la majoria d'evidències farmacològiques en rata han implicat el subtipus D₂ de la família de receptors dopaminèrgics en els efectes de dèficit de la PPI per agonistes dopaminèrgics, s'han emprat ratolins genoanul·lats per tal de confirmar definitivament aquesta relació. Així els ratolins mutants D₂ (a diferència dels D₃ i D₄) són els únics que no presenten l'efecte normal de l'amfetamina sobre la PPI (Ralph *et al.*, 1999).

2. ESCORÇA PREFRONTAL

2.1. L'escorça prefrontal i la seva implicació en l'esquizofrènia

El lòbul frontal està constituït per l'escorça motora i premotora i, rostral a aquestes àrees, la prefrontal (EPF). Les escorces motora i premotora participen en la selecció i generació de moviments, mentre que la prefrontal està principalment implicada en processos cognitius i motivacionals/emocionals, i presenta unes fronteres anatòmiques imprecises en les diverses espècies de mamífers (Fuster, 1997).

En el cervell humà, l'EPF representa l'àrea cortical més extensa de l'hemisferi cerebral, aproximadament el 30% del còrtex cerebral (Uylings i Van Eden, 1990), i ha assolit un grau elevat de diferenciació morfològica i funcional, constituint el nivell més elevat de la jerarquia cortical responsable de la representació i execució d'

accions. En primats no humans, l' EPF és també l' àrea neocortical més evolucionada.

L' EPF es va definir de manera general com la part del lòbul frontal que rep la majoria de les seves entrades talàmiques del nucli mediodorsal (MD) (Rose i Woolsey, 1948). Tenint en compte la connectivitat amb el nucli talàmic MD com la característica definidora de l' EPF, la majoria d' espècies de vertebrats contenen una regió prefrontal en la part rostral de l' encèfal. Ara bé, en nombroses espècies, com per exemple la rata, el còrtex on projecta aquest nucli talàmic no conté una capa IV granular i per tant, es considera com escorça agranular (Groenewegen i Uylings, 2000). En primats no humans, l' EPF comprèn les àrees 8-13, 24, 32, 46 i 47 del mapa citoarquitectònic de Brodmann elaborat l' any 1909 (figura 2). En estudis posteriors realitzats també en micos, s' ha demostrat que algunes àrees descrites en el còrtex frontal granular de Brodmann, incloses en l' EPF per les majoritàries aferències rebudes des del nucli MD, no contenen una capa IV granular a l' igual que en rata. Cal destacar que la capa IV en micos rep aferències talàmiques en neurones estrellades amb axons en plomall, que permeten la distribució d' informació entre capes. En la rata, els axons procedents del nucli MD fan sinapsi en neurones piramidals i GABAèrgiques essencialment de capes III i V (Kuroda *et al.*, 1998). Així i tot, les característiques citoarquitectòniques no es poden emprar per a identificar una àrea cortical comparable en espècies allunyades com rata i mico (Uylings i Van Eden, 1990); el còrtex motor primari en rates, per exemple, és un còrtex granular a diferència del que succeeix en primats. Per tant, els criteris més importants són els de connectivitat i funcionalitat.

L' EPF de micos es pot dividir en dues regions principals: la dorsolateral i l' orbitomedial (Fuster, 1997; Groenewegen i Uylings, 2000). La regió dorsolateral de l' EPF (la més desenvolupada en humans) està implicada en processos cognitius, organització temporal del comportament, el raonament i el llenguatge, mentre que per la seva part, l' orbitomedial participa en el comportament social/emocional/motivacional com la inhibició del comportament. La integració temporal i la memòria operativa són funcions controlades per la regió dorsolateral. D' altra banda, l' EPF també està implicada en funcions sensorimotors i viscerals. Cal destacar que totes aquestes àrees estan interconnectades (Fuster, 1997).

Pel que fa a la rata, l'EPF es pot subdividir en tres regions principals: la lateral (àrees insular agranular dorsal (AID) i ventral (AIV)), l'orbital (localitzada ventralment al cos callós) i la medial (figura 2D). A la vegada, aquesta darrera, l'EPFm que ha estat l'àrea majoritàriament estudiada en el present treball, es divideix en tres zones (de dorsal a ventral): cingulada anterior (Cg1), prelímbica (PL) i infralímbica (IL). A l'igual que en el cas dels micos, dins d'aquestes majors parts de l'EPF, es troben diferents àrees citoarquitectòniques (Groenewegen i Uylings, 2000) que possiblement contribuïrien de manera diferencial al conjunt de funcions de l'EPF. El fet que aquestes àrees presentin un patró de connectivitat diferent recolzaria la hipòtesi d'una diferenciació funcional ja que les funcions de l'EPF estan estretament relacionades amb la seva connectivitat amb gran varietat d'estructures cerebrals i no es poden comprendre fora d'aquest context (Fuster, 1997; 2001). En aquest sentit, treballs recents basats en l'estudi de les projeccions d'ambdues zones, suggeririen que la zona PL estaria més implicada en les funcions límbico-cognitives (equivalents a l'EPF dorsolateral de primats), i la zona IL controlaria activitats viscerales-autònomes (equivalents a l'EPF orbitomedial de primats) (Vertes, 2004).

L'EPF és una regió clau en l'esquizofrènia ja que juga un paper primordial en un gran número de funcions cerebrals superiors, com ara cognició, control de la conducta i de l'afecte, i adaptació al medi entre d'altres (Fuster, 1997; Miller i Cohen, 2001), i aquestes funcions precisament són les que estan alterades en pacients esquizofrènics (Lewis i Lieberman, 2000). Les neurones piramidals de l'EPF són els elements cel·lulars claus per a la realització d'aquestes funcions i el procés fonamental en el que es basa l'operativitat de l'EPF és la memòria a curt termini (operativa), procés essencial per a la cognició humana (Fuster i Bauer, 1974). En efecte, experiments realitzats en micos han mostrat que les neurones de l'EPF, en concret de l'àrea dorsolateral, es mantenen actives en absència d'estímul, durant els períodes de temps en els que l'animal necessita recordar la localització d'un estímul visual presentat amb anterioritat, a diferència del que succeeix en àrees sensorials o motores de l'escorça, on les neurones s'activen durant el temps d'entrada de senyals sensorials o de realització de la tasca motora. En aquest camp, s'han realitzat diversos estudis sobre les bases cel·lulars i la

connectivitat de l' EPF responsables d' aquest increment sostingut de l' activitat cortical (Goldman-Rakic, 1996).

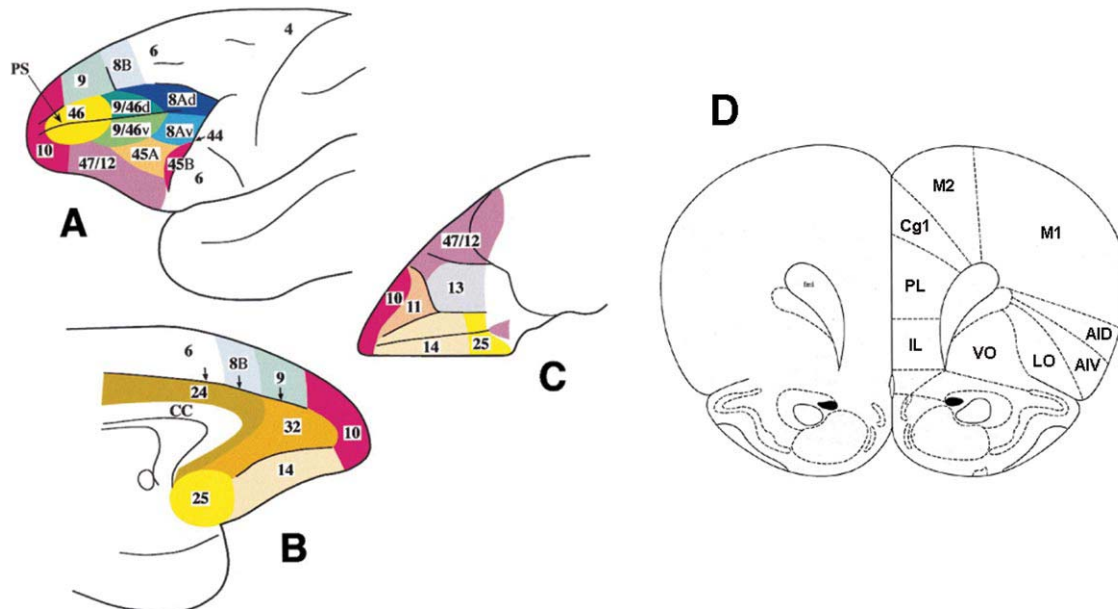


Figura 2. Estructura de l' EPF de mico i rata. Vista lateral (A), vista medial (B), vista inferior (C) de l' EPF de mico (actualització de Petrides i Pandya (2001) del mapa de Brodmann). D) Vista coronal de l' EPF de rata (+3.2 mm anterior a bregma, atlas de Paxinos i Watson, 1998). Àrea lateral: AID i AIV, escorça insular agranular dorsal i ventral; àrea ventral: VO i LO, escorça orbital ventral i lateral; àrea medial: Cg1, escorça cingulada; PL, escorça prefrontal; IL, escorça infralímbica. També es mostren les regions motores 1 i 2 (M1 i M2, respectivament).

S' ha descrit una funció i metabolisme energètic a l' EPF reduïts en pacients amb trastorns psiquiàtrics greus com depressió o simptomatologia afectiva/negativa en l' esquizofrènia (Weinberger *et al.*, 1994; Andreasen *et al.*, 1997; Drevets 2001; Potkin *et al.*, 2002). D' altra banda, els dèficits cognitius en pacients esquizofrènics estan originats per alteracions en els circuits cerebrals en els que participa el còrtex prefrontal (Bertolino *et al.*, 2000; Elvevag *et al.*, 2000). De la mateixa manera, pacients que han patit una lobotomia prefrontal són relativament resistents als efectes psicotomimètics del PCP (Itil *et al.*, 1967), suggerint que aquesta droga alteraria fonamentalment la funció de l' EPF que és l' àrea implicada en l' esquizofrènia.

Estudis de neuroimatge han caracteritzat un gran número d' alteracions anatomo-patològiques en el cervell dels esquizofrènics; reducció del volum cortical, hipocampal i talàmic, i engrandiment dels ventricles entre d' altres (Tsai i Coyle, 2002). Estudis d' imatge prospectius suggereixen que aquests canvis podrien ser progressius, com a mínim en la majoria dels pacients (Tsai i Coyle, 2002). La malaltia, per tant, podria ser neurodegenerativa per ella mateixa, es desconeix encara de quina manera començarien a aparèixer les modificacions estructurals presents en la gran majoria de pacients (Baare *et al.*, 2001; Hulshoff *et al.*, 2002; Staal *et al.*, 2000) i en quina mesura alguns d' aquests canvis podrien ser conseqüència del tractament farmacològic (Lewis, 2002). Altres estudis funcionals han mostrat també la incapacitat dels esquizofrènics d' activar el còrtex frontal i l' hipocamp en tasques cognitives que requereixen de la seva acció per a una realització òptima (Weinberger i Gallhofer, 1997). Per altra part, els nivells de N-acetilaspargat (NAA), un marcador d' integritat neuronal (Tsai i Coyle, 1995) s' han trobat reduïts de manera significativa en el còrtex prefrontal, l' hipocamp i el lòbul temporal (Tsai i Coyle, 2002). L' esquizofrènia, per tant, és un trastorn amb un seguit d' anormalitats estructurals i funcionals distribuïdes en el circuit tàlamo-cortico-límbic del cervell.

2.2. Citoarquitectura de l' escorça prefrontal

L' estratificació de les cèl·lules en capes o la uniformitat de determinades connexions són característiques comunes de totes les àrees corticals que, de ben segur, són d' una gran importància funcional.

En primats no humans, l' EPF dorsal, com altres regions corticals d' associació, està formada per sis capes que es poden distingir segons la mida i la densitat d' empaquetament de les neurones que les constitueixen. A l' EPFm de rata, les capes més superficials de l' escorça es localitzen a la regió més propera de la línia mitjana del cervell mentre que les capes profundes es situen de manera més lateral respecte a les primeres. En rates, com ja hem comentat anteriorment, no existeix la capa IV granular en cap de les àrees corticals que pertanyen a l' EPF. D' altra banda, la diferenciació entre les cinc capes de l' EPFm és complicada a causa del grau d' empaquetament de la zona al costat de la línia mitjana del cervell i de fet, es

distingeixen només quatre capes: I, II/III, V i VI (Swanson, 1998). La capa I és la més fàcil de delimitar perquè no conté neurones piramidals (McCormick *et al.*, 1985). El cos de les neurones piramidals es localitza principalment en les capes II/III (piràmides petites), V (piràmides grans) i VI. A l'escorça, apart de les neurones piramidals, trobem una altra població neuronal, les interneurons GABAèrgiques que estan localitzades homogèniament en totes les capes corticals inclosa la capa I.

Les neurones piramidals són la població neuronal majoritària de l'escorça, al voltant d'un 75-80% del total, i són glutamatèrgiques. A nivell morfològic, estan formades per un soma o cos cel·lular d'uns 25-50 µm de diàmetre que dona lloc a una única dendrita apical orientada de manera perpendicular a la línia mitjana i que projecta fins a les capes superficials com capa I. Aquestes neurones piramidals presenten també un conjunt de dendrites basals més curtes que es disposen radialment al voltant de la base del cos cel·lular. Ambdós tipus de dendrites, apicals i basals, estan cobertes de petites protuberàncies o espines que representen la principal diana de la majoria d'entrades sinàptiques excitadores a les neurones piramidals.

La informació que arriba a l'EPFm a través de les diferents capes corticals és captada mitjançant la dendrita apical de les neurones piramidals que actua d'*antena* i una vegada rebuda, la informació és integrada per aquestes neurones que emeten un impuls elèctric cap a les àrees de projecció. D'aquesta manera, la sortida d'informació a través dels axons piramidals depèn del balanç entre les respostes mitjançades pels diferents receptors excitadors i inhibidors presents a aquestes neurones. Existeix una especificitat laminar dins el tipus de projeccions de l'escorça frontal: les neurones piramidals de les capes II/III acostumen a projectar vers altres àrees de l'escorça, les de la capa VI al tàlem i algunes zones corticals i són bàsicament les neurones piramidals de capa V les que canalitzen el senyal de sortida cap a la gran quantitat d'estructures subcorticals.

Les interneurons GABAèrgiques representen aproximadament el 15-30% de la població neuronal de l'escorça i proporcionen un control local inhibitori (Beaulieu, 1993; Somogyi *et al.*, 1998; De Felipe, 2002). En els darrers anys s'han realitzat nombrosos estudis sobre la seva morfologia, neuroquímica i patró de descàrrega, que han permès establir un seguit de classificacions segons aquests criteris.

La classificació morfològica de les interneurons es pot efectuar per la forma i mida del soma en combinació amb el tipus d' arbre dendrític i distingim: neurones comuns, en cistell (*basket cells*), en canelobre (*chandelier*), en dos poms (*double bouquet*), bipolars, Martinotti i finalment, de forma neuroglial. Al mateix temps, l' organització de l' arbre axonal es divideix en tres grups: grup I o local, grup II o horitzontal i grup III o vertical (De Felipe, 2002). Les interneurons corticals poden expressar tres tipus de proteïnes d' unió al calci (classificació bioquímica): calbindina (CB), parvalbúmina (PV) i calretinina (CR). També es poden identificar diferents subpoblacions d' interneurons GABAèrgiques per la presència de neuropèptids específics: neuropèptid Y (NPY), pèptid vasoactiu intestinal (VIP), somatostina (SS) o colecistoquinina (CCK). L' expressió d' aquestes proteïnes d' unió al calci i neuropèptids no és exclusiu d' un tipus neuronal sinó que trobem diferents poblacions d' interneurons que expressen diverses combinacions de distintes proteïnes d' unió al calci i de neuropèptids.

L' activitat de l' escorça està basada en el funcionament de microcircuits formats per un conjunt de connexions molt específiques entre una neurona piramidal i diferents interneurons GABAèrgiques, microcircuits que es repeteixen diverses vegades en cada capa cortical. La sortida principal del circuit és a través de l' axó de les neurones piramidals que està influït per les cèl·lules GABAèrgiques que realitzen contactes axo-axònics específics dels circuits corticals. Endemés, existeixen connexions intralaminars (uneixen neurones piramidals amb propietats semblants) i interlaminars o columnars (coordinen l' activitat de diferents circuits) (Somogyi *et al.*, 1998; De Felipe *et al.*, 2002).

En la figura 3 es resumeixen les anormalitats existents en la connectivitat còrtex prefrontal-nucli MD del tàlem, principalment alteracions cel·lulars i neuroquímiques (GABA, DA, glutamat) en les neurones piramidals i interneurons de l' EPF, associades amb l' esquizofrènia (Lewis i Lieberman, 2000).

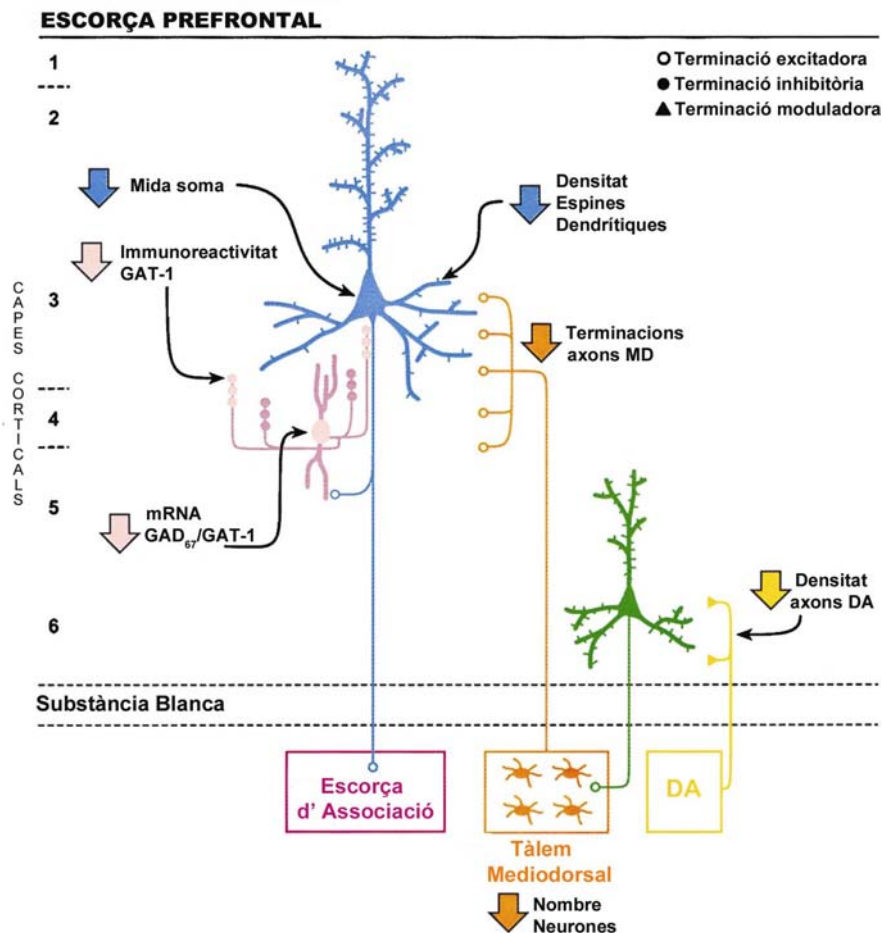


Figura 3. Esquema d'algunes de les alteracions neuroquímiques i funcionals trobades a l'EPF de pacients esquizofrènics (modificat de Lewis i Lieberman, 2000).

2.3. Connectivitat

L'EPF és el còrtex associatiu de màxim nivell, integrador d'informació sensorial, motora, cognitiva, emocional i autonòmica, i aquesta funcionalitat va estretament lligada a la seva connectivitat, aferències i eferències amb multitud d'estructures. L'EPF està formada per un conjunt d'àrees neocorticals interconnectades que envien i reben projeccions de pràcticament tots els sistemes sensorials corticals, sistemes motors i un elevat nombre d'estructures subcorticals (per un extens estudi en primat i rata de les connexions cortico-corticals i per a totes les aferències i eferències de l'EPF, vegeu Fuster, 1997 i Groenewegen i Uylings, 2000).

A nivell subcortical, l'EPF projecta majoritàriament al tàlem, als nuclis aminèrgics del mesencèfal (nucli serotoninèrgic del rafe NR; noradrenèrgic del *locus coeruleus* LC; dopaminèrgic de l'ATV), a l'hipotàlem lateral, al sistema límbic (amígdala i

hipocamp), als ganglis basals (caudat-putamen, nucli accumbens i parts estriatals del tubercle olfactiu) i a l' habènula lateral (Berendse i Groenewegen, 1991; Groenewegen *et al.*, 1997; Groenewegen i Uylings, 2000). En estudis de traçat anterògrad de l' EPFm de rata amb l' excepció de projeccions comunes a parts del còrtex prefrontal orbitomedial, del cervell anterior olfactiu i dels nuclis de la línia mitjana del tàlem, s' han distingit de manera més específica diferents projeccions des de les zones PL i IL de l' EPFm (Vertes, 2004; figura 5; Takagishi i Chiba, 1991). Aquestes projeccions diferencials, sens dubte, reflecteixen distintes funcions per IL i PL (vegeu apartat 2.1.).

Gran part d' aquesta connectivitat és recíproca (figura 4). L' EPF rep aferències principalment dels nuclis aminèrgics del tronc de l' encèfal, del tàlem, del sistema límbic (complex amigdaloide basal i VCA1) i de l' hipotàlem. Les connexions de l' EPF amb l' amígdala són molt més extenses i àmplies que amb la formació hipocampal. Ambdues regions, amígdala i l' hipotàlem, projecten a les parts ventral i medial de l' EPF (Ray i Price, 1993). Les aferències de l' hipocamp per la seva part arriben a totes les regions prefrontals (Barbas i Blatt, 1995). Les interconnexions de l' EPF amb l' amígdala i l' hipocamp possiblement participen en el control del comportament emocional mentre que les connexions amb l' hipotàlem en les funcions visceral (Fuster, 1997; Groenewegen i Uylings, 2000).

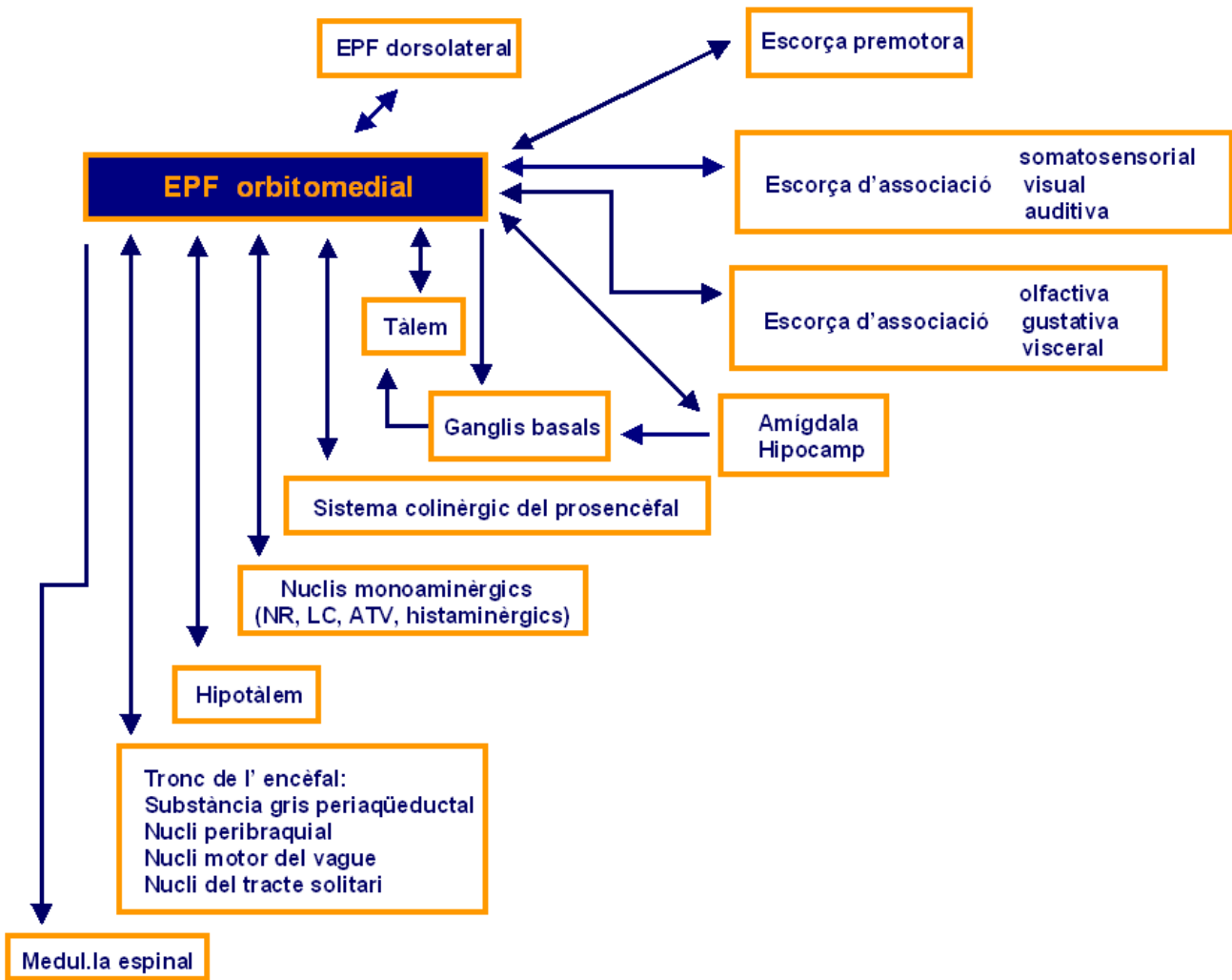


Figura 4. Representació esquemàtica de l'organització de les connexions aferents i eferents de l'EPF orbitomedial de primat (modificat de Groenewegen i Uylings, 2000).

2.3.1. *Connectivitat amb el tàlem*

L'EPF manté, com la majoria d'altres zones corticals, unes fortes connexions recíproques amb determinats nuclis del tàlem. Per aquest fet, el tàlem constitueix una important font d'aferències per l'EPF i a la inversa, l'EPF pot influenciar, mitjançant les denses connexions cortico-talàmiques, el flux d'informació que arriba a l'escorça via tàlem (Groenewegen i Uylings, 2000).

Les connexions entre l'EPF i el nucli MD del tàlem es troben molt ben organitzades topogràficament i precisament aquesta projecció específica des del nucli MD s'ha emprat com a criteri per a identificar l'EPF en una gran varietat d'espècies (Rose i Woolsey, 1948; Fuster, 1997). Aquesta via és excitadora i activa les

neurones corticals a través dels receptors AMPA (Piro *et al.*, 1994). Més endavant s'ha demostrat que el nucli MD del tàlem no projecta de manera restrictiva a les parts anteriors del lòbul frontal sinó que també arriba a les àrees corticals premotora i motora primària situades més posteriorment (Groenewegen i Uylings, 2000). Per tant, el criteri proposat inicialment per Rose i Woolsey per tal de definir de manera estricta l'EPF no representa un criteri inequívoc, tot i que l'EPF s'ha de considerar la part del lòbul frontal que presenta unes connexions recíproques més fortes amb el nucli MD del tàlem (Uylings i Van Eden, 1990).

En la rata, el segment medial del nucli MD del tàlem projecta majoritàriament a l'EPFm (àrees PL i IL), orbital i AID. Aquestes aferències talàmiques, en concret, fan sinapsi a les espines dendrítiques de les neurones piramidals i transmeten informació límbica i visceral a l'EPF mentre que altres segments del nucli MD proporcionen entrades d'informació visceral/autonòmica, olfactiva i motora a partir dels ganglis basals, entre d'altres (Groenewegen i Uylings, 2000; Kuroda *et al.*, 1998). Dins de l'EPFm s'ha demostrat que l'àrea prelímbica, en particular, rep la majoria d'aferències talàmiques procedents del segment medial del nucli MD però que també hi ha projeccions cap aquesta regió des d'altres nuclis talàmics (Condé *et al.*, 1990).

D'aquesta manera, l'EPF, a més de rebre projeccions del nucli MD, a la vegada rep projeccions dels anomenats nuclis de la línia mitjana i dels nuclis intralaminars del tàlem dorsal on destaca el nucli centromedial (CM).

Pel que fa a les projeccions des de l'EPFm cap al tàlem, cal destacar que la zona cortical PL, a diferència de l'IL, al mateix temps, projecta als nuclis talàmics MD, paraventricular i reuniens (Vertes, 2004). Aquestes projeccions corticotalàmiques al nucli MD procedeixen de les neurones de les capes V i VI de l'EPF (Groenewegen i Uylings, 2000).

2.3.2. Connectivitat amb els nuclis aminèrgics del mesencèfal

Hi ha una forta connectivitat recíproca entre l'EPF i els nuclis aminèrgics del mesencèfal o cervell mig. El control de l'escorça sobre aquests nuclis moduladors és de gran importància ja que gràcies a ells l'escorça és capaç d'influir no només en els nivells de la seva pròpia neurotransmissió monoaminèrgica, sinó també en el

d' altres àrees corticals i subcorticals que tenen un elevat impacte en les funcions cerebrals superiors. Com ja hem esmentat anteriorment, l' EPF rep aferències excitadores d' altres àrees corticals així com del tàlem. Aquestes entrades excitadores estan a la vegada modulades per aferències dels nuclis monoaminèrgics del tronc de l' encèfal.

Vies ascendents. La innervació dopaminèrgica de l' EPF ha estat estudiada amb molt detall tant a nivell anatòmic com funcional (Carr *et al.*, 1999; Sesack i Carr, 2002). En primats, les terminacions dopaminèrgiques innerven tota l' escorça frontal, a més de l' EPF, també les escorces premotora i motora primària. Ara bé, existeixen certes diferències entre espècies pel que fa a la topografia i densitat de la innervació dopaminèrgica cortical; en primats les escorces premotora i motora primària reben una més elevada densitat de projeccions dopaminèrgiques que determinades àrees de l' EPF, mentre que en rata la densitat d' aquesta innervació és més gran en àrees prefrontals (Groenewegen i Uylings, 2000).

D' altra banda, les innervacions noradrenèrgica i serotoninèrgica estan menys estudiades que la dopaminèrgica (Robbins, 2000). La noradrenalina (NA) exerceix respostes complexes a l' EPFm amb un predomini de respostes inhibidores que, probablement, tenen lloc a través d' interneurons GABAèrgiques corticals (Branchereau *et al.*, 1996) i també s' han descrit diferents accions de la NA segons actuï sobre receptors adrenèrgics α_1 o α_2 (Arnsten, 2004). Per altra part, s' ha demostrat que els nuclis del rafe dorsal (NDR) i medial (NMR) donen lloc a dues classes anatòmicament diferents de terminacions serotoninèrgiques (O'Hearn i Molliver, 1984; Kosofsky i Molliver, 1987).

Vies descendents. Al mateix temps, aquestes neurones dels grups monoaminèrgics són innervades per fibres procedents de l' EPF, en particular l' EPF orbital i medial en primats i l' EPF medial en rates. Una altra vegada, les projeccions des de l' EPF a l' ATV (grups cel·lulars dopaminèrgics A10) i a la substància nigra medial pars compacta (A9) han estat vastament descrites (Beckstead, 1979; Sesack *et al.*, 1989; Carr i Sesack, 2000). Experiments de microscòpia electrònica han mostrat que les terminacions de l' EPF innerven densament les neurones dopaminèrgiques de l' ATV que tornen en menys proporció a l' EPF i neurones GABAèrgiques que a la vegada també poden projectar a l' EPF; ambdues poblacions neuronals de l' ATV projecten així mateix al NAc (Carr i Sesack, 1999;

2000). Tots aquests circuits són d'una elevada especificitat. D'altra banda, l'EPF pot modular indirectament l'activitat de les neurones dopaminèrgiques de l'ATV a través de la via N. Accumbens → pàl·lid ventral → ATV i també a través de les connexions de l'EPF als nuclis del pont, com el LDT o PPTg, que al seu torn projecten a l'ATV i en modulen la seva activitat (Floresco et al., 2003).

L'EPF medial en rates projecta al *locus coeruleus*, en concret a les dendrites de les neurones noradrenèrgiques situades a la zona perifèrica adjacent a la part central del nucli on hi ha els somes d'aquestes neurones (Luppi et al., 1995) i exerceix una potent excitació tònica (Jodo et al., 1998). Tanmateix, en altres estudis s'ha proposat una acció inhib tòrica de l'escorça frontal sobre el LC que estaria possiblement mediada per interneurons situades dins del LC o a la zona adjacent (Sara i Hervé-Minvielle, 1995).

Inicialment, es van descriure projeccions des de l'escorça als NR en rata (Aghajanian i Wang, 1977). Altres estudis realitzats mitjançant la tècnica del traçat anterògrad i retrògrad han mostrat que totes les zones de l'EPFm, és a dir, Cg, PL i IL, projecten, en més o menys proporció, al NDR (Sesack et al., 1989; Peyron et al., 1998; Hajós et al., 1998). Estudis més recents han descrit amb més detall un patró de projeccions diferenciades entre les escorces PL i IL, la primera projecta predominantment als NR tant dorsal com medial (figura 5; Vertes, 2004).

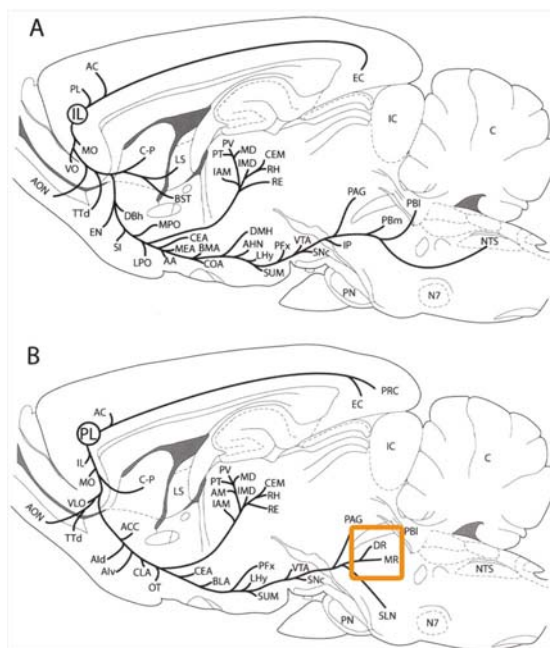


Figura 5. Representació esquemàtica de talls sagitals de cervell de rata resumint les principals projeccions de les escorces infralímbica (IL; A) i prelímbica (PL; B). El quadrat taronja mostra la localització dels nuclis DR i MR, als quals projecta majoritàriament l'escorça PL (Modificat de Vertes, 2004).

2.4. Neurotransmissors i receptors presents a l'escorça prefrontal medial

Les neurones piramidals de l'EPF reben aferències excitadores de les zones anteriorment citades que realitzen sinapsis a les espines dendrítiques apicals riques en receptors glutamatèrgics ionotròpics. Aquestes entrades excitadores estan modulades, com hem esmentat abans, per aferències dels nuclis monoaminèrgics del mesencèfal, en concret serotoninèrgics dels nuclis del rafe, noradrenèrgics del *locus coeruleus* i dopaminèrgics de l'àrea tegmental ventral. D'aquesta manera, a més de receptors glutamatèrgics i GABAèrgics, les neurones de l'EPF expressen receptors serotoninèrgics (en particular 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}), dopaminèrgics (D₁ a D₅, especialment D₄ i D₅) i α_1 -adrenèrgics (Pieribone *et al.*, 1994; Pompeiano *et al.*, 1992, 1994; Jakab i Goldman-Rakic, 1998; Lidow *et al.*, 1998; De Felipe *et al.*, 2001).

2.4.1. Receptors serotoninèrgics a l'EPFm

En els darrers anys la família de receptors de 5-HT en el SNC de mamífers ha incrementat fins a 14 subtipus diferents. A excepció del receptor 5-HT₃, que forma un canal iònic i pertany així a la família de receptors ionotròpics (Peters *et al.*, 1992), la resta de receptors de 5-HT pertanyen a la superfamília de receptors acoblats a proteïnes G (receptors metabotròpics), la qual inclou també els receptors adrenèrgics i dopaminèrgics. L'estructura de tots aquests receptors és molt similar amb set dominis transmembranals, un tercer bucle intracel·lular molt llarg que interactua amb la proteïna G, l'extrem amino-terminal a l'exterior de la membrana cel·lular i l'extrem carboxi-terminal a l'interior. Els segments extracel·lulars formen un buit o "butxaca" que constitueix el lloc d'unió dels agonistes. Fins ara s'han descrit 5 subtipus del receptor 5-HT₁: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} i 5-HT_{1F}, els quals estan acoblats negativament a l'adenilat ciclasa mitjançant proteïnes G_{i/o} i presenten elevada afinitat per la 5-HT; 3 subtipus del receptor 5-HT₂: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} i 5-HT_{2C}, acoblats a la hidròlisi de fosfoinosítids i mobilització de Ca²⁺ a través de l'activació inicial de proteïnes G_q i conseqüent activació de la fosfolipasa C, i els receptors 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ i 5-HT₇ que estan acoblats positivament a l'adenilat ciclasa (per revisió vegeu Hoyer *et al.*, 1994).

Els receptors 5-HT_{1A} tenen una localització dual; a nivell somatodendrític de neurones serotoninèrgiques (Kia *et al.*, 1996a; Riad *et al.*, 2000), on actuen com a autoreceptors, i postsinàpticament, principalment en estructures límbiques (hipocamp, sèptum, hipotàlem, amígdala, tàlem) i escorça (Pazos i Palacios, 1985; Vergé *et al.*, 1985; Miquel *et al.*, 1991; Pompeiano *et al.*, 1992; Kia *et al.*, 1996b). Es localitzen a cos cel·lular i dendrites, sense migrar a terminacions (Sotelo *et al.*, 1990; Pompeiano *et al.*, 1992) i les zones més enriquides en aquest receptor són el NDR, el NMR i la formació hipocampal. L'activació dels receptors 5-HT_{1A} provoca una hiperpolarització neuronal mediada a través de canals de K⁺ acoblats a proteïnes G. L'ocupació d'aquests receptors per 5-HT o agonistes específics produeix una inhibició de l'activitat de les neurones on es troba localitzat, ja siguin serotoninèrgiques o d'altres tipus, com glutamatèrgiques. Diversos agonistes són selectius pel receptor 5-HT_{1A}, ara bé dins d'aquest grup cal distingir entre agonistes amb alta activitat intrínseca com la 8-OH-DPAT i el BAY x 3702 i agonistes parcials com els ansiolítics buspirona, alnespirona i ipsapirona. Per la seva part, la síntesi d'antagonistes ha estat més complicada, de moment l'únic lligand antagonista és el WAY 100635 (Fletcher *et al.*, 1994; Fletcher *et al.*, 1996). L'any 1998 dos grups diferents (Parks *et al.*, 1998; Ramboz *et al.*, 1998), van generar ratolins *knockout* del receptor 5-HT_{1A}. S'ha observat que aquests ratolins tenen deficiències en l'activitat exploratòria, i tenen més por als espais desconeguts i/o oberts, a més de deficiències en la mobilitat en el test de natació forçada, molt emprat per a avaluar fàrmacs amb acció antidepressiva.

Els receptors 5-HT_{2A} es troben àmpliament distribuïts per l'escorça, però també s'han localitzat, encara que en molta menor proporció, al claustru, algunes àrees del sistema límbic, principalment al nucli olfactiv i a zones dels ganglis basals (Pazos *et al.*, 1985, 1987; Hoyer *et al.*, 1986). Aquesta distribució coincideix amb l'obtinguda en estudis d'hibridació *in situ* (Mengod *et al.*, 1990; Pompeiano *et al.*, 1994; López-Giménez *et al.*, 1997), suggerint d'aquesta manera que els receptors 5-HT_{2A} es localitzen preferentment en els cossos cel·lulars i les dendrites de les cèl·lules que contenen l'ARNm que els sintetitza. Aquests receptors serotoninèrgics mostren una baixa afinitat per la 5-HT i no es troben a les neurones serotoninèrgiques.

Les neurones piramidals de l'EPFm expressen una gran varietat de receptors serotoninèrgics, entre ells els més abundants són els receptors 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}

(Pazos i Palacios, 1985; Pompeiano *et al.*, 1992, 1994; Kia *et al.*, 1996b; Willins *et al.*, 1997; Jakab i Goldman-Rakic, 1998, 2000; De Felipe *et al.*, 2001; Martín-Ruiz *et al.*, 2001). Els receptors 5-HT_{2A} es localitzen principalment a la dendrita apical (Willins *et al.*, 1997; Jakab i Goldman-Rakic, 1998; Cornea-Hébert *et al.*, 1999; Xu i Pandey, 2000; figura 6C). Els receptors 5-HT_{1A}, d' altra banda, es trobarien preferentment al soma i a les dendrites basals (Kia *et al.*, 1996a; Riad *et al.*, 2000), tot i que també s' ha descrit una localització més específica al segment inicial de l' axó piramidal (con axonal), una regió clau en el control de l' excitabilitat piramidal (Azmitia *et al.*, 1996; De Felipe *et al.*, 2001; Czyrack *et al.*, 2003; Cruz *et al.*, 2004; figures 6A i 6B). Aquests resultats conflictius sorgeixen per la utilització de dos anticossos amb diferents llocs d' unió al receptor 5-HT_{1A}.

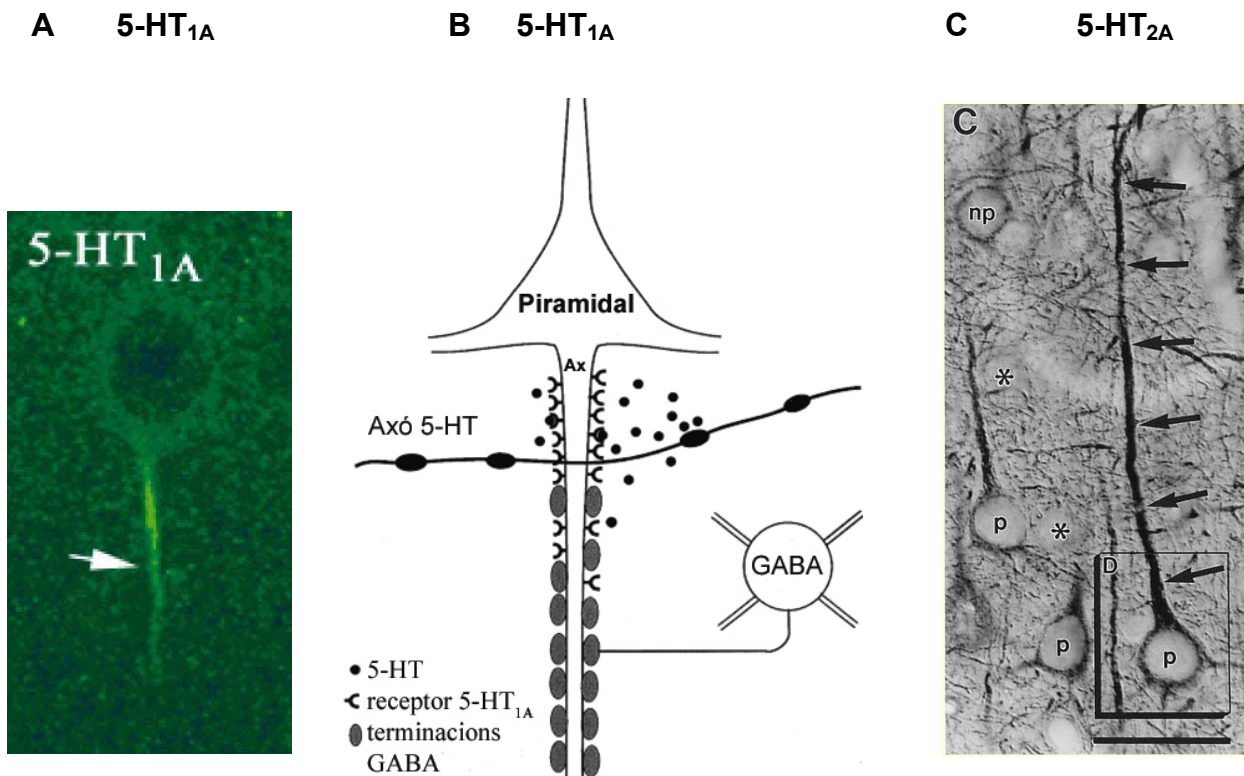


Figura 6. Localització dels receptors 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} a diferents segments de les neurones piramidals d' escorça. A) Immunoreactivitat pel receptor 5-HT_{1A} al con axonal (De Felipe *et al.*, 2001). B) Esquema de la possible localització dels receptors 5-HT_{1A} i GABA_A al con axonal de les neurones piramidals i de l' acció paracrina de la 5-HT a l' escorça (De Felipe *et al.*, 2001). C) Immunoreactivitat pel receptor 5-HT_{2A} a la dendrita apical de les neurones piramidals (p; Jakab i Goldman-Rakic, 1998).

Estudis d'electrofisiologia *in vitro* i *in vivo* suggereixen la colocalització dels receptors 5-HT_{1A} (hiperpolaritzants) i 5-HT_{2A} (despolaritzants) en les mateixes neurones piramidals (Araneda i Andrade, 1991; Ashby *et al.*, 1994). L'activació dels receptors 5-HT_{2A} produeix així un increment de l'excitabilitat de les neurones piramidals de l'EPFm (Araneda i Andrade, 1991; Aghajanian i Marek, 1997) que es tradueix en un increment de la freqüència de descàrrega (Puig *et al.*, 2003). D'altra banda, agonistes del receptor 5-HT_{2A}, com LSD o DOI, són al·lucinògens mentre que compostos que actuen com antagonistes, així com d'agonistes 5-HT_{1A}, són antipsicòtics atípics (Kroeze i Roth, 1998; Meltzer, 1999; Millan, 2000; vegeu apartat 3.1.). Recentment s'ha relacionat els receptors 5-HT_{2A} situats a l'EPF amb la memòria operativa (Williams *et al.*, 2002) i s'ha observat que una variació genètica funcional d'aquest receptor afecta la memòria en humans (De Quervain *et al.*, 2003). Encara que no està clar el paper del receptor 5-HT_{2A}, s'ha descrit recentment que la 5-HT de l'EPF està implicada en la flexibilitat de l'aprenentatge (Clarke *et al.*, 2004).

Els receptors 5-HT_{1A}, per la seva part, estan implicats en l'ansietat (Heisler *et al.*, 1998; Parks *et al.*, 1998) i aprenentatge; i s'ha vist que antagonistes d'aquest receptor reverteixen dèficits cognitius induïts per l'antagonista NMDA, MK-801 i altres drogues (Harder i Ridley, 2000; Mello i Negus, 2001; Misane i Ogren, 2003). Totes aquestes observacions, juntament amb el fet que existeixin alteracions en alguns receptors 5-HT en el lòbul frontal de pacients esquizofrènics (Arango *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 2000; Gurevich *et al.*, 2002), suggereixen que el blocatge d'aquests receptors corticals podria resultar beneficiós en el tractament de malalties psiquiàtriques greus.

Per la seva part, els receptors 5-HT_{2C} es troben en altes densitats als plexes coroides (Pazos *et al.*, 1984), sobretot a les cèl·lules epitelials (Yagaloff i Hartig, 1985). També s'han detectat a d'altres regions com el sistema límbic i àrees associades a l'activitat motora, així com les escorces cingulada, piriforme i retrosplenial, nucli olfactiv, i nucli subtalàmic, i també en el NDR (Clemett *et al.*, 2000), tot i que en menor proporció respecte als plexes coroides. S'ha suggerit que aquests receptors podrien regular la composició i volum del líquid cèfalo-raquídi (Pazos *et al.*, 1984), ja que també hi ha terminacions serotoninèrgiques a les parets dels ventricles cerebrals. Es creu que aquests receptors podrien estar implicats

també en processos com la locomoció, alimentació, anorèxia, alliberament de l'hormona adrenocorticotròpica, migranya, trastorns obsessius compulsius i ansietat (Kennett i Curzon, 1988; Curzon i Kennett, 1990; Lucki, 1992). L'estudi de ratolins genoanul.lats del receptor 5-HT_{2C} suggereix que aquest receptor podria estar relacionat amb l'excitabilitat neuronal i amb el control serotoninèrgic de la gana (Tecott *et al.*, 1995).

Estudis de microscòpia electrònica mostren que les neurones 5-HT del mesencèfal innerven també cèl.lules neocorticals no piramidals (De Felipe *et al.*, 1991; Smiley i Goldman-Rakic, 1996). Les interneurons GABAèrgiques d'escorça expressen diferents tipus de receptors per la 5-HT, en particular 5-HT_{2A}, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C} i 5-HT₃ (Willins *et al.*, 1997; Morales i Bloom, 1997; Jakab i Goldman-Rakic, 1998, 2000; Jansson *et al.*, 2001; Santana *et al.*, 2004). El fet que ambdós receptors, 5-HT_{2A} i 5-HT_{1A}, s'expressin en les dues subpoblacions neuronals, neurones piramidals i interneurons GABAèrgiques, introdueix un element addicional de complexitat en la regulació serotoninèrgica de l'activitat piramidal a l'EPF.

2.4.2. Receptors adrenèrgics a l'EPFm

S'han caracteritzat molecularment fins a 9 subtipus diferents de receptors noradrenèrgics (metabotròpics), tres del tipus β (β_1 , β_2 i β_3), quatre del tipus α_1 (α_{1A} , α_{1B} , α_{1C} i α_{1D}) i tres del tipus α_2 (α_{2A} , α_{2B} i α_{2C}). Els receptors β estan acoblats positivament i els α_2 , negativament, a l'adenilat ciclase mentre que els receptors α_1 , estudiats en la present memòria, estan acoblats positivament a la hidròlisi de fosfoinositols.

No trobem evidències directes immunohistoquímiques pel que fa a la presència dels α_1 -adrenoceptors en neurones piramidals, tot i que estudis d'autoradiografia i d'hibridació *in situ* mostren una gran quantitat d' $\alpha_{1A/B/D}$ -adrenoceptors a diverses capes corticals riques en cèl.lules piramidals, mostrant així una distribució laminar similar a la dels receptors serotoninèrgics 5-HT_{2A} (Palacios *et al.*, 1987; McCune *et al.*, 1993; Pieribone *et al.*, 1994; Day *et al.*, 1997; Domyancic i Morilak 1997). Ara bé, a diferència dels 5-HT_{2A}, els α_1 -adrenoceptors en rata tenen una distribució en dues bandes al voltant de la capa V (Jones *et al.*, 1985; Palacios *et al.*, 1987). A més, els α_1 -adrenoceptors estan acoblats al mateix mecanisme de transducció de senyal que

els 5-HT_{2A}, és a dir, llur estimulació activa la fosfolipasa C, que resulta en la producció d' inositol trifosfat i la consegüent mobilització dels magatzems de Ca²⁺ (Molinoff 1984; Porter *et al.*, 1999). En comú amb altres regions corticals (Sato *et al.*, 1989), l' estimulació dels α_1 -adrenoceptors a l' EPFm origina respostes excitadores i per tant, juntament amb els receptors 5-HT_{2A}, són els responsables de les accions excitadores de la NA i 5-HT, respectivament, sobre l' activitat de les neurones piramidals de l' EPFm (Araneda i Andrade 1991; Marek i Aghajanian, 1999) i l' analogia d' aquests efectes suggereix també una localització semblant pels dos receptors.

Per altra part, tant el tàlem com els NR, dues importants àrees de projecció a l' escorça, expressen abundantment l' ARNm de l' α_{1B} -adrenoceptor. Ara bé, la bona correspondència entre la proteïna del receptor i l' ARNm suggereix una localització somatodendrítica d' aquest receptor (Palacios *et al.*, 1987; McCune *et al.*, 1993; Pieribone *et al.*, 1994; Day *et al.*, 1997; Domyancic i Morilak 1997). És interessant de remarcar que tots els antipsicòtics, típics i atípics, tenen una elevada afinitat per aquests α_1 -adrenoceptors i actuen com antagonistes (vegeu apartat 3.1.).

S' han observat nivells augmentats de NA en fluid cerebrospinal de pacients esquizofrènics no medicats (Lake *et al.*, 1980) i de pacients amb un episodi agut (van Kammen *et al.*, 1990). S' ha descrit també que la NA jugaria un paper important en els dèficits cognitius observats a l' esquizofrènia (Fields *et al.*, 1988; van Kammen i Kelley 1991). En aquest sentit, la NA té una gran influència, a l' igual que la DA, sobre la funció cognitiva de l' EPF mitjançant l' acció als α -adrenoceptors (Arnsten i Goldman-Rakic, 1985; Li i Mei, 1994). No obstant, a diferència de l' estimulació del receptor dopaminèrgic D₁ que sempre produeix un dèficit cognitiu en rosegadors, primats i humans, la NA té accions diferents segons el receptor sobre el qual actua: nivells moderats de NA intensifiquen les funcions prefrontals a través dels α_{2A} -adrenoceptors postsinàptics, mentre que nivells alts d' alliberament de NA (té menys afinitat per α_1), per exemple durant estrès, perjudiquen la funció prefrontal mitjançant accions als α_1 -adrenoceptors (Arnsten *et al.*, 1999; Birnbaum *et al.*, 1999; Mao *et al.*, 1999). D' aquesta manera, la infusió d' antagonistes del receptor α_1 a l' EPF té poc efecte en la memòria operativa en condicions basals (Li i Mei, 1994; Birnbaum *et al.*, 1999), però en canvi la protegeix durant l' exposició a l' estrès (Birnbaum *et al.*, 1999). Així mateix, els efectes d' estrès sobre la memòria operativa poden ser

mimetitzats per la infusió d' un agonista α_1 com la fenilefrina a l' EPF. Així infusions de fenilefrina a l' EPF afecten negativament les tasques de memòria operativa en rates (Arnsten *et al.*, 1999) i primats (Mao *et al.*, 1999). Aquesta alteració és revertida per la coperfusió de l' antagonista α_1 urapidil (Mao *et al.*, 1999). Per tot l' esmentat, el bloqueig α_1 -adrenoceptor originat pels antipsicòtics tindria un efecte protector similar a l' EPF. Endemés, aquestes troballes poden ser importants per conèixer la fisiopatologia de l' esquizofrènia ja que s' ha observat que l' estrès exacerba o precipita els símptomes esquizofrènics (Mazure *et al.*, 1995) i és probable que aquests mecanismes contribueixin a l' empitjorament induït per estrès del trastorn de pensament i la deterioració cognitiva en pacients.

Les accions perjudicials a nivell dels α_1 -adrenoceptors són conseqüència, com hem comentat prèviament i a l' igual que succeeix en els receptors serotoninèrgics 5-HT_{2A}, de l' activació de la senyalització a través de la proteïna quinasa C intracel·lular, un camí sobreactivat tant en l' esquizofrènia com en el trastorn bipolar (Manji i Lenox, 2000; Mirnics *et al.*, 2001; Lidow 2003). Per tant, el bloqueig d' aquest camí de segons missatgers (Baldessarini *et al.*, 1992), o l' estimulació dels receptors α_{2A} (Friedman *et al.*, 2001), són dianes lògiques pel desenvolupament farmacèutic.

2.4.3. Receptors dopaminèrgics a l' EPFm

Fins ara han estat clonats cinc subtipus diferents de receptors per la dopamina (tots ells metabotròpics), agrupats en dues famílies: la D1, formada pels subtipus D₁ i D₅, i la dels receptors D2, que inclou els subtipus D₂, D₃ i D₄. Ambdues famílies estan acoblades a l' adenilat ciclase; els receptors D₁ i D₅ estimulen aquesta activitat enzimàtica mentre que els D2 la inhibeixen.

La DA pot modular a través dels receptors D₁ i D₂ l' activitat de les neurones piramidals, incrementant la seva sensibilitat a les entrades excitadores. Així, s' han descrit canvis en l' estat de membrana d' aquestes cèl·lules piramidals (*up* i *down*) que depenen de les vies ascendents de l' ATV (O' Donnell *et al.*, 2002).

L' ARNm dels receptors dopaminèrgics D₁ i D₂ es troba majoritàriament a l' estriat dorsal i ventral i el del D₃ s' expressa de manera més restringida pràcticament només a l' estriat ventral de rata. El missatger del D₂ s' expressa també a l' ATV i a SN a

diferència del D₁ (Mengod *et al.*, 1989; Mansour *et al.*, 1990; Fremeau *et al.*, 1991; Mengod *et al.*, 1992).

Els subtipus més abundants a l'EPF són els D₁ i els D₄; pel que fa als primers, tant l'expressió del missatger com la del receptor es troba sobretot en capes corticals profundes V-VI a l'EPFm (Cg1, PL, IL), mentre que els D₄ es distribueixen per totes les capes (Huang *et al.*, 1992; Ariano *et al.*, 1997; Defagot *et al.*, 1997; Wedzony *et al.*, 2000). En ambdós casos el principal component que expressa la proteïna són perfils cel·lulars grans amb forma piramidal. Tot i l'existència de certa literatura contradictòria, recentment s'ha descrit també la presència del missatger i del receptor D₅ a l'escorça frontal (Ariano *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2000; Ciliax *et al.*, 2000; Zelenin *et al.*, 2002). S'ha relacionat una més elevada densitat de receptors dopaminèrgics D₁ i D₅ corticals amb un dèficit cognitiu en pacients esquizofrènics (Abi-Dargham *et al.*, 2002) i hi ha un interès creixent pels receptors D₄ ja que els antipsicòtics presenten afinitat *in vitro* per aquest receptor (taula 1).

Tot i la importància dels receptors D₂ en el tractament de l'esquizofrènia i de l'EPFm en els símptomes de la malaltia, la presència dels receptors D₂ en aquesta regió no està prou clara. S'ha suggerit una moderada expressió del missatger i de la proteïna en totes les capes corticals i especialment a capa V en diferents tipus de perfils cel·lulars (Vincent *et al.*, 1993; Le Moine i Gaspar, 1998).

2.4.4. Receptors glutamatèrgics a l'EPFm

Els efectes del glutamat tenen lloc a través de dos principals classes de receptors: els receptors glutamatèrgics ionotròpics i els metabotròpics, acoblats a la proteïna G. Aquests darrers, vuit dels quals han estat clonats, actuen via fosfolipasa C (grup I: mGluR1 i 5) o inhibint l'adenilat ciclase (grup II: mGluR2 i 3; grup III: mGluR 4, 6, 7 i 8), modulant així la neurotransmissió glutamatèrgica de manera complexa. Els receptors glutamatèrgics ionotròpics a la vegada es divideixen en tres famílies: els receptors AMPA, els receptors kainat i els receptors NMDA.

Els estudis de clonatge han identificat un mínim de quinze subunitats que formen els canals iònics glutamatèrgics (Hollmann i Heinemann, 1994). Aquests receptors ionotròpics consten de 4 o 5 subunitats, les quals són específiques per cada una de les tres famílies (NMDA, AMPA i KA). Els receptors AMPA i KA són estructures

pentamèriques. Per la seva part, els receptors NMDA estan formats com a mínim per dues subunitats NR1 i dues subunitats NR2; la subunitat NR1 forma la part fonamental del complex receptor, mentre que els diferents subtipus de la subunitat NR2 determinen les constants d'obertura del canal iònic i modifiquen els efectes de diversos antagonistes, donant lloc a receptors amb diferents característiques electrofisiològiques. El receptor NMDA presenta diferents llocs d'unió (figura 7).

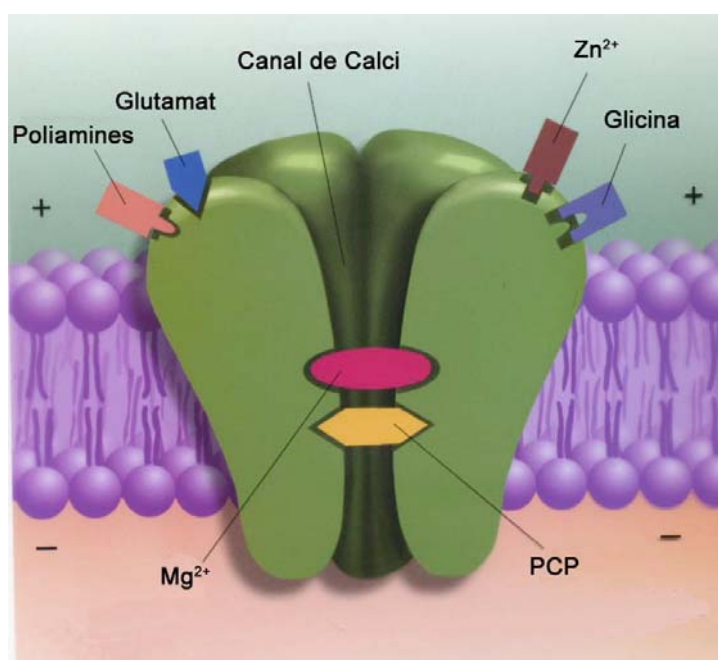


Figura 7. Representació esquemàtica del receptor NMDA amb els seus llocs d'unió: pel glutamat; per la glicina (co-agonista), cal que estigui ocupat perquè el glutamat pugui obrir el canal iònic (Johnson i Ascher, 1987) i la D-serina és un lligand endogen per aquest lloc d'unió; per les poliamines; pel zenc; i pels antagonistes NMDA no competitius (fenciclidina, PCP; ketamina; MK-801), és necessari el canal iònic obert perquè aquests s' uneixin ja que el seu lloc d'unió es troba dins del propi canal iònic.

Pel que fa a la funcionalitat, els receptors AMPA són els responsables en primer lloc de generar la major part dels corrents postsinàptics excitadors (EPSCs) produïts per glutamat. L' estimulació dels receptors AMPA corticals, mitjançant la desinhibició de les projeccions excitadores talàmiques cap a l' escorça, incrementa la freqüència de descàrrega de les neurones piramidals i l' alliberament de 5-HT a l' EPFm (Puig *et al.*, 2003). El receptor KA no està tan ben caracteritzat com el receptor AMPA i es

desconeix el seu paper principal en el sistema nerviós. D'altra banda, els receptors NMDA, l'activació dels quals produeix una corrent de caràcter lent i durador que té lloc pel flux cap a l'interior de Ca^{2+} , presenten alguns trets distintius respecte als altres receptors ionotrópics glutamatèrgics. Són dependents de voltatge, el magnesi bloqueja de manera no competitiva el canal sota condicions basals de potencial de membrana, bloqueig alliberat per la despolarització. D'aquesta manera, l'obertura del canal NMDA només es produeix quan existeix una despolarització prèvia a través principalment de receptors AMPA. Aquestes propietats del receptor NMDA confereixen funcions integradores utilitzades en diferents mecanismes fisiològics: generació de l'activitat motora rítmica, regulació del desenvolupament neuronal embrionari, i la potenciació a llarg termini (LTP, *long term potentiation*) com a base de l'aprenentatge i algunes formes de memòria.

S'ha descrit una elevada distribució del receptor AMPA a escorça cerebral, caudat putamen, hipocamp i cerebel, i menor al mesencèfal mitjançant estudis d'autoradiografia (Mutel *et al.*, 1998). De manera semblant, l'ARNm del receptor NMDA és present a neurones de totes les regions cerebrals de rata, i en particular a l'hipocamp, escorça i cerebel (Moriyoshi *et al.*, 1991). Els receptors mGluR s'han trobat en una alta densitat en regions corticals (capes 1-3>4-6), caudat putamen, tubercle olfatiu, hipocamp, i gir dentat entre d'altres (Schaffhauser *et al.*, 1997). D'altra banda, s'ha vist també una alta densitat de mGluR2/3 a la capa V de l'EPF i en menor grau a la capa II/III a diferència del que succeeix a la regió frontoparietal (Marek *et al.*, 2000). A l'EPFm trobem també receptors metabotrópics mGluRII en terminacions talàmiques.

Les neurones piramidals contenen a les dendrites apicals gran quantitat de receptors ionotrópics glutamatèrgics AMPA. Els receptors ionotrópics glutamatèrgics NMDA ha estat descrits en neurones piramidals i en interneurones GABAèrgiques. S'ha descrit que les interneurones GABAèrgiques són aproximadament 10 vegades més sensibles als inhibidors del receptor NMDA respecte a les neurones piramidals en preparacions d'hipocamp (Grunze *et al.*, 1996). Així mateix, s'ha descrit una àmplia distribució de la subunitat NMDAR1 en moltes neurones en la majoria d'estructures del cervell, en especial a les neurones piramidals de l'hipocamp, a les cèl·lules de Purkinje del cerebel, a neurones de l'hipotàlem i també al neocòrtex, certs nuclis talàmics, estriat i tubercle olfatiu entre d'altres (Petralia *et al.*, 1994).

3. FARMACOLOGIA DELS TRACTAMENTS ANTIPSICÒTICS

3.1. Fàrmacs antipsicòtics

El tractament farmacològic tradicional de l' esquizofrènia es basa en la utilització de fàrmacs que presenten la propietat de ser antagonistes dels receptors dopaminèrgics del tipus D2 i s' anomenen antipsicòtics clàssics o típics (AT). D' entre ells destaquen l' haloperidol i la clorpromacina. La clorpromacina va ser el primer fàrmac antipsicòtic descobert, a començaments dels anys 50 mentre que l'haloperidol, de síntesi més recent, ha esdevingut el fàrmac antipsicòtic típic més usat. Aquests fàrmacs són efectius en revertir la simptomatologia psicòtica sense millorar els símptomes negatius/afectius i a més, existeixen evidències que indiquen un deteriorament de la funció cognitiva en pacients esquizofrènics produït pel bloqueig de les accions dopaminèrgiques a l' EPF. D' altra banda, el bloqueig de les accions motores de la DA en el circuit nigro-estriatal produeix simptomatologia extrapiramidal i discinèsies tardanes, i el bloqueig dopaminèrgic a l' hipotàlem produeix hiperprolactinèmia. Alguns d' aquests efectes secundaris són greus i obliguen a suspendre el tractament. El descobriment de la clozapina a meitat dels anys 70 va permetre el desenvolupament d' una nova generació de fàrmacs amb un perfil farmacològic diferent (més elevada afinitat pels receptors serotoninèrgics 5-HT_{2A} que pels D2) i d' aquesta manera obtenir una disminució dels greus efectes secundaris motors prèviament citats característics dels AT (Meltzer, 1999) i per aquest motiu, es van anomenar antipsicòtics atípics (AAT). La clozapina és el prototip d' aquest grup de fàrmacs, és el més efectiu i no comparteix completament els seus efectes amb els altres AAT. Així es caracteritza per absència de discinèsia tardana, manca d' hiperprolactinèmia en humans, capacitat d' eliminar els símptomes positius sense exacerbar símptomes motors en pacients amb Parkinson, capacitat de disminuir o eliminar totalment els símptomes psicòtics en aproximadament el 60% dels pacients esquizofrènics que són resistents als AT i millora dels símptomes negatius i de la funció cognitiva en malalts resistents a AT.

No obstant, els AAT poden originar també greus efectes secundaris, com agranulocitosi en un 1% dels pacients (clozapina), increment de pes (olanzapina), convulsions (quetiapina) o trastorns metabòlics, entre d' altres. Estudis de

neuroimatge (PET i SPECT) han mostrat que una ocupació de receptors D2 del 80% a estriat produeix simptomatologia extrapiramidal. Aquest grau d'ocupació s'aconsegueix fàcilment amb AT, mentre que la ocupació produïda pels ATT (i en particular la clozapina) està per sota del 70%. Ara bé, la risperidona (AAT), malgrat ocupar de forma preferent els receptors 5-HT_{2A}, produeix una ocupació dels receptors D2 superior al 80% a dosis terapèutiques (>5 mg/dia). Els altres antipsicòtics atípics com clozapina, olanzapina, quetiapina o ziprasidona no presenten aquesta característica, fet que posa de manifest la heterogeneïtat dels fàrmacs considerats com atípics. En qualsevol cas, això és una raó més per a dissenyar nous fàrmacs antipsicòtics amb mecanismes diferents als del bloqueig dopaminèrgic. Endemés, diversos antipsicòtics atípics, com la ziprasidona o l'aripiprazol, mostren una afinitat elevada pel receptor 5-HT_{1A} i són agonistes parcials d'aquest receptor, mentre que d'altres que no presenten alta afinitat, com la risperidona o la pròpia clozapina, actuen de fet com agonistes indirectes de l'esmentat receptor (Millan, 2000; Ichikawa *et al.*, 2001; Chou *et al.*, 2003).

Cal destacar que tots els antipsicòtics efectius, típics i atípics, tenen també una elevada afinitat pels adrenoceptors α_1 i actuen com antagonistes (Peroutka i Snyder, 1980; Bymaster *et al.*, 1996) i de fet, tot i els efectes adversos cardiovasculars, estudis realitzats recentment en models animals han suggerit un possible paper terapèutic del bloqueig adrenèrgic α_1 (prazosin) potenciant l'efecte tipus antipsicòtic de l'antagonista del receptor dopaminèrgic D2 raclopride (Wadenberg *et al.*, 2000). Estudis d'electrofisiologia *in vivo* recolzen aquest argument ja que suggereixen una elevada correlació entre les propietats de bloqueig noradrenèrgic d'un antipsicòtic i la seva potència clínica (Marwaha *et al.*, 1981). No obstant, cal tenir present que el bloqueig adrenèrgic α_1 per sí sol no sembla que confereixi activitat antipsicòtica (Hommer *et al.*, 1984).

Per tant, la varietat de receptors per la que els fàrmacs antipsicòtics tenen afinitat (taula 1) fa que la recerca de noves estratègies terapèutiques o de tractaments més específics depengui d'un millor coneixement de les bases neurobiològiques subjacents a la malaltia.

És d'interès tornar a remarcar que les neurones de l'EPF expressen receptors serotoninèrgics (en particular 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}), dopaminèrgics (D₁ a D₅, especialment, D₄ i D₅) i noradrenèrgics α_1 (Pieribone *et al.*, 1994; Pompeiano *et al.*,

1992 i 1994; Jakab i Goldman-Rakic, 1998; Lidow *et al.*, 1998; De Felipe *et al.*, 2001). Així mateix, la presència de receptors glutamatèrgics metabotròpics (mGluR I-V) i ionotròpics NMDA i no-NMDA (AMPA i kaïnat) en neurones piramidals i no piramidals, juntament amb l' existència de receptors GABA_A, i receptors colinèrgics muscarínics (especialment M₁) i nicotínics (Hyde i Crook, 2001), fa palès que aquesta regió posseeix la major part de receptors sobre els quals actuen els fàrmacs antipsicòtics.

Receptor	TÍPICS				ATÍPICS	
	Haloperidol	Clorpromacina	Clozapina	Olanzapina	Risperidona	Aripiprazol
D ₁	210	19.95	85	31	430	265*
D ₂	0.7	1.25	126	11	4	0.45*
D ₃	2		473	49	10	0.8*
D ₄	3		35	27	9	44*
5-HT _{1A}	1100		875	> 10 000	210	4.4*
5-HT _{2A}	45	7.94	16	4	0.5	3.4*
5-HT _{2C}	>10 000	12.59	16	23	25	15*
α ₁	6	1	7	19	0.7	47
H ₁	440		6	7	20	61*
M ₁	> 1500		1.9	1.9	> 10 000	> 10 000

Taula 1. Afinitat *in vitro* dels antipsicòtics pels receptors monoaminèrgics (nM; modificada de Bymaster *et al.*, 1996; Seeger *et al.*, 1995; Daniel *et al.*, 1999; Arnt i Skarsfeldt, 1998; DeLeon *et al.*, 2004; *dades amb receptors humans clonats).

Tot i que la introducció dels antipsicòtics a l' inici dels anys 50 va representar una revolució en el tractament de l' esquizofrènia permetent als pacients esquizofrènics sortir dels hospitals i llocs d' internament, encara estem lluny de posseir un tractament ràpid, segur i efectiu per a tots els malalts que pateixen aquest trastorn mental. D' aquesta manera, la resistència al tractament d' alguns pacients, el retard en l' aparició de l' efecte terapèutic, els greus efectes secundaris mencionats anteriorment i la manca d' efectivitat per a tractar els símptomes negatius i el

deteriorament cognitiu, són les principals limitacions de l' actual teràpia antipsicòtica.

Els antipsicòtics atípics són igualment efectius en millorar els símptomes positius i presenten una absència gairebé total d' efectes extrapiramidals, fet que afavoreix el compliment de les pautes terapèutiques. Malgrat aquests avantatges, segueixen tenint poca eficàcia en la simptomatologia negativa encara que no produeixen tant deteriorament cognitiu com els fàrmacs clàssics.

De tota manera, aquesta possible eficàcia dels antipsicòtics atípics en la simptomatologia negativa i afectiva ha portat a provar l' eficàcia de l' olanzapina en combinació amb la fluoxetina (inhibidor selectiu de la recaptació de serotonina, ISRS) en pacients depressius resistents al tractament i s' ha observat una millora significativa en aquests pacients respecte als tractats només amb ISRS (Shelton *et al.*, 2001).

Es desconeix per quina raó els AAT (antagonistes preferents del receptor 5-HT_{2A} enfront del D₂) exerceixen la seva acció terapèutica amb una ocupació de receptors D₂ inferior al llindar terapèutic dels antipsicòtics convencionals. La diferència més important entre ambdues famílies, encara que no l' única, és l' antagonisme dels receptors 5-HT_{2A} exercit pels fàrmacs atípics (Kroeze i Roth, 1998; Meltzer, 1999). Per tant, resulta de gran interès estudiar el paper dels receptors monoaminèrgics, entre ells el 5-HT_{2A}, en el control de l' activitat de les neurones de l' EPF implicades en els circuits cerebrals relacionats amb els comportaments aberrants observats en aquesta malaltia, com a pas previ per a comprendre el mecanisme d' acció terapèutic dels antipsicòtics i afavorir el disseny de nous fàrmacs que superin les limitacions actuals.

3.2. Altres tractaments (experimentals)

Atès el paper del glutamat i en particular, del receptor NMDA, en models experimentals d' esquizofrènia (vegeu apartat 1.2.3.), s' ha assajat l' eficàcia de fàrmacs amb accions sobre diversos llocs reguladors d'aquest receptor. Gran part dels assaigs clínics han examinat els efectes addicionals de l' administració oral dels agonistes del lloc de modulació de la glicina: glicina, D-serina i D-cicloserina (DCS), a un tractament crònic amb antipsicòtics clàssics en pacients amb poca resposta;

efectes que han portat a una reducció dels símptomes negatius de l' esquizofrènia i una millora variable de la funció cognitiva; i només l' agonista total més potent, D-serina, ha disminuït els símptomes positius. En estudis animals, agonistes d' aquest lloc de la glicina han millorat alguns dels efectes de comportament del PCP.

Els resultats positius d' aquests assaigs clínics han portat al desenvolupament de lligands més específics que han resultat prometedors en models preclínics. En primer lloc, els bloquejants específics del transportador de glicina (Javitt, 2002) que incrementarien els nivells sinàptics de glicina i per tant, intensificarien la funció NMDA. En segon lloc, els moduladors positius dels mGluR5, receptors que potencien sinèrgicament les corrents induïdes pel receptor NMDA i finalment, els agonistes mGluR2/3, receptors que autoregulen l' alliberació de glutamat, normalitzen els efectes de comportament dels antagonistes NMDA (Moghaddam i Adams, 1998). Recents assaigs clínics en voluntaris sans mostren que el tractament amb agonistes mGluR2/3 redueix els dèficits cognitius tipus esquizofrènia induïts per ketamina (Krystal *et al.*, 2003).

Tal i com hem comentat prèviament, per tal d' activar els receptors NMDA cal una despolarització de la membrana a través dels receptors AMPA, i per tant, agents que modulin positivament la funció del receptor AMPA com les ampaquines haurien de tenir efectes terapèutics en una situació d' hipofunció NMDA (Johnson *et al.*, 1999). Així, resultats preliminars d' assaigs on pacients prenen clozapina juntament amb ampaquines han revelat millores en la realització de proves d' atenció i memòria (Goff *et al.*, 1999).