

Instituto Politécnico Nacional

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

Maestría en Ciencias Quimicobiológicas

“Efecto de la clozapina sobre la morfología dendrítica de neuronas
piramidales de corteza prefrontal y espinosas medianas del estriado
en ratas con lesión del hipocampo ventral”

PRESENTA

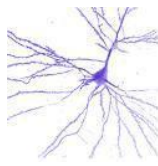
Yaredit Margarita Flores Vivaldo

Directores de tesis.

Dr. Gonzalo Flores Álvarez

Dr. Sergio Roberto Zamudio Hernández

Diciembre 2009



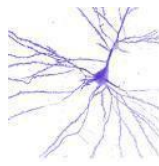
ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	3
ABREVIATURAS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
ANTECEDENTES	7
Esquizofrenia	
Modelos animales de esquizofrenia	
Modelos de lesión	
Modelos de lesión neonatal	
Clozapina un antipsicótico atípico	
JUSTIFICACIÓN	35
HIPÓTESIS	35
OBJETIVOS	36
Objetivo general	
Objetivos específicos	
MATERIAL Y MÉTODOS	37
RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	54
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59



ÍNDICE DE FIGURAS

1.- Esquema de conexión en el sistema límbico	11
2.- Esquema corte sagital de redes en el sistema límbico	12
3.- Distribución de neuronas en la corteza cerebral	13
4.- Esquema del hipocampo y sistema límbico	15
5.- Esquema en capas del hipocampo	16
6.- Estructura molecular de la clozapina	28
7.- Tabla de afinidad de receptores por clozapina	28
8.- Sistema mesolímbico cortical involucrado en esquizofrenia	31
9.- Cuadro receptores de dopamina	33
10.- Receptores dopaminérgicos y su unión a proteínas G	34
11.- Sistema serotoninérgico en el modelo de esquizofrenia	35
12.- Esquema de material y métodos	38
13.- Corte coronal del hipocampo ventral	39
14.- Inyección intraperitoneal	39
15.-Punción cardiaca	40
16.- Montaje de cortes	40
17.- Dibujo de neuronas	41
18.- Análisis de Sholl	42
19.- Fotografía de la lesión en hipocampo ventral	43
20.- Neurona piramidal de CPFm	43
21.- Neurona espinosa mediana del NAcc	43
22.- Neurona espinosa mediana del caudado-putamen	43
23.- Actividad locomotora a los 60 días	44
24.- Arborización de la CPFm en el grupo con lesión falsa “Sham”	45
25.- Arborización de la CPFm en el grupo LnHV	45
26.- Longitud dendrítica total en neuronas piramidales de CPFm	46
27.- Densidad de espinas dendríticas de neuronas piramidales de CPFm	46
28.- Arborización del NAcc en el grupo con lesión falsa “Sham”	47
29.- Arborización del NAcc en el grupo LnHV	47
30.- Longitud dendrítica total en neuronas espinosas medianas del NAcc	48
31.- Densidad de espinas dendríticas distales de neuronas espinosas medianas de NAcc	48
32.- Densidad de espinas dendríticas proximales de neuronas espinosas medianas de NAcc	48
33.- Arborización del caudado-putamen en el grupo con lesión “Sham”	49
34.- Arborización del caudado-putamen en el grupo LnHV	49
35.- Longitud dendrítica total en neuronas espinosas medianas del caudado –putamen	50
36.- Densidad de espinas dendríticas de neuronas espinosas medianas del caudado-putamen	50



ABREVIATURAS

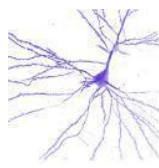
AP	Antero Posterior
AVT	Área ventral tegmental
CA	Cuerno de Ammón
CPF	Corteza prefrontal
CPFm	Corteza prefrontal media
DA	Dopamina
DV	Dorso ventral
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
LnHV	Lesión neonatal en hipocampo ventral
ML	Medio lateral
NA	Noradrenalina
NAcc	Núcleo accumbens
NMDA	N-metil-D-aspartato
NRD	Núcleo del rafé dorsal
NRM	Núcleo del rafé medial
PBS	Solución amortiguadora de fosfatos
SE	Serotonina
SHAM	Lesión falsa



RESUMEN

La lesión neonatal en hipocampo ventral (LnHV) es un modelo animal con implicaciones para la esquizofrenia, basado en una alteración del neurodesarrollo, que puede ser utilizado para el estudio de la morfología en un área específica del circuito propuesto en la fisiopatología de la esquizofrenia. En el presente estudio investigamos el efecto de la clozapina, un antipsicótico atípico, en la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal media (CPFm), de neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens (NAcc) y del caudado-putamen; en ratas adultas con LnHV y sus controles con lesión falsa (SHAM). Llegadas las ratas a la edad post-púber (60 días) se les administró clozapina (1 ó 2 mg/kg) por 21 días. Las características morfológicas de las neuronas piramidales y espinosas, se estudiaron utilizando la técnica de Golgi-Cox seguido por el análisis de Sholl. Además, se evaluó la actividad motora ante ambiente nuevo antes y después del tratamiento. Se confirmó el efecto esperado de hiperactividad post-puberal (60 días de edad) en ratas con LnHV, dicho efecto permaneció después de 21 días de tratamiento con vehículo al comparar los grupos LnHV y SHAM. Cuando analizamos el efecto de la clozapina (1 ó 2 mg/kg), ésta no provocó cambios en el grupo SHAM, pero sí redujo la hiperactividad motora provocada por la lesión neonatal del hipocampo ventral. Morfológicamente, la LnHV no causó en nuestro estudio, cambios en la arborización o en la densidad de espinas dendríticas en la CPFm; sin embargo, el tratamiento con clozapina sí provocó un aumento de la longitud dendrítica total de ambos grupos (SHAM y LnHV). En cambio, en el NAcc, la LnHV redujo todas las variables neuronales evaluadas (longitud dendrítica y densidad de espinas). Como en el experimento de conducta, el tratamiento con clozapina (2 mg/kg) en las ratas con LnHV, revirtió la disminución de la longitud dendrítica total y en la densidad de espinas dendríticas. En el caudado-putamen, ni la LnHV ni el tratamiento con clozapina, provocaron cambios en la morfología neuronal analizada.

En resumen, al parecer, la LnHV provoca alteraciones estructurales en el NAcc que se manifiestan conductualmente como una hiperactividad motora, y ambas son corregidas por el tratamiento súbcronico con clozapina.



ABSTRACT

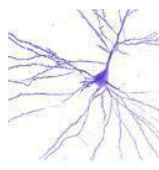
The neonatal lesion of ventral hippocampus (LnHV) is an animal model with implications for schizophrenia, this considered as a neurodevelopmental disorder, LnHV can be used to study the morphology in a specific areas of the proposed circuit in the pathophysiology of schizophrenia. In this study we investigated the effect of clozapine, an atypical antipsychotic, on the morphology of pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex (CPFm), and medium spiny neurons of the nucleus accumbens (NAcc) and caudate-putamen in adult rats with LnHV and in their controls with sham lesion (SHAM). At post-pubertal age (60 days) rats were administered with clozapine (1 or 2 mg/kg) for 21 days. The morphological characteristics of pyramidal and spiny neurons were studied using the Golgi-Cox technique followed by Sholl analysis. In addition, motor activity was assessed in new environment before and after treatment. We confirmed the expected increment in motor activity in post-pubertal (60 days old) rats with LnHV, this effect remained after 21 days of treatment with vehicle in both LnHV and SHAM groups. When we analyzed the effect of clozapine (1 or 2 mg / kg), it caused no change in the SHAM group, but reduced motor hyperactivity induced by neonatal lesion of ventral hippocampus. Morphologically, the LnHV in our study did not cause changes in the arborization or the density of dendritic spines in CPFm, however, the treatment with clozapine caused an increase in total dendritic length in both groups (SHAM and LnHV). In contrast, in the NAcc, the LnHV reduced all neuronal variables evaluated (length and density of dendritic spines). As in the behavioral experiment, treatment with clozapine (2 mg / kg) in rats with LnHV, reversed the decrease in total dendritic length and density of dendritic spines. In the caudate-putamen, neither LnHV nor treatment with clozapine resulted in changes in the neuronal morphology.

In summary, LnHV causes structural alterations in the NAcc behaviorally manifested as motor hyperactivity, and both are corrected by subchronic treatment with clozapine.

ESQUIZOFRENIA

Durante los albores del siglo XX estaban delimitados 2 tipos principales de enfermedades mentales: La demencia senil, como la pérdida de las capacidades cognitivas en ciertas personas ancianas (ahora conocida como Alzheimer) y los trastornos de la personalidad y del comportamiento social (Kandel, 2001).

Emil Kraepelin y Eugen Bleuler, dos de los padres de la psiquiatría moderna, son los responsables de clasificar como patología a la “esquizofrenia”, ya que en 1893, Kraepelin proclamó que había descubierto ciertas características en un grupo de personas cuyo deterioro se había iniciado durante su adolescencia y había continuado, de manera inevitable, hasta un estado permanente de debilidad psicológica, por lo que se le llamó demencia precoz (Read, 2006). Llamó demencia precoz (deterioro intelectual precoz) a un nuevo síndrome con una edad de inicio temprana característicamente en la adolescencia, a diferencia de la demencia senil. Kraepelin observó que a menudo en este síndrome se presentaba una evolución progresiva sin remisiones, provocando a la larga un deterioro muy marcado en el intelecto.

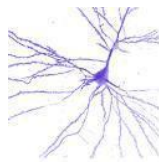


Interesantemente, Kraepelin la diferenció de otro síndrome: “la psicosis maniaco depresiva”; el cual se acompaña de síntomas diferentes: alteración del estado de ánimo en vez del intelecto, así como una evolución muy diferente.

Eugen Bleuler propuso que había un grupo de enfermedades relacionadas íntimamente, caracterizadas por un trastorno específico de la cognición más que por un deterioro general del intelecto (demencia). Propuso que el trastorno era una fragmentación de la mente, con el resultado de que los procesos cognitivos estaban separados de la voluntad, el comportamiento y la emoción, denominando a este grupo de enfermedades las esquizofrenias, una escisión de la mente.

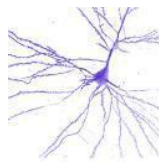
Eugen Bleuler, quería referirse a una ruptura con la realidad, producida por la desorganización de las diversas funciones de la mente, de modo que los pensamientos y los sentimientos por lo general ya no se encuentran al unísono, las personas pueden poner de manifiesto esta escisión de la mente al reír al tiempo que relatan un acontecimiento trágico o no mostrar ninguna emoción cuando cuentan algo alegre, comportándose de manera libre y espontánea con grosería e impertinencia sin hacer diferencia de status de autoridad ni género (Carlson, 2006).

¿Entonces cómo se definió a la esquizofrenia? Esquizofrenia viene de (*esquizo*, separación y *phrén*, *phenós*, mente). Trastorno que se caracteriza por la disociación psíquica, despersonalización, alteraciones del curso del pensamiento, autismo, alteraciones psicomotrices (catatonia), trastornos de la afectividad (ambivalencia), trastornos sensorceptivos (alucinaciones) y delirio paranoide (Navarro, 2002). Además Kraepelin y Bleuler no sólo querían demostrar que todas estas conductas eran síntomas de una enfermedad, sino también que esta enfermedad se transmitía genéticamente. Buscaron pruebas en las familias de los esquizofrénicos. El objetivo básico de los estudios en este campo es comprender el papel desempeñado por los factores genéticos en la provocación y mantenimiento de estados esquizofrénicos (Read y cols., 2006). De tal forma que si la esquizofrenia es un trastorno hereditario, los parientes de los esquizofrénicos deberían mostrar una incidencia de esquizofrenia



mayor que la de la población general, así como el riesgo entre los familiares incrementaría con la proximidad del parentesco, ya que los familiares directos comparten un mayor número de genes. Si la esquizofrenia fuera un rasgo simple producido por un solo gen, se podría esperar que este trastorno se manifiesta en, al menos, el 75% de los hijos de padres esquizofrénicos en el caso de que el gen fuera dominante. Si fuera recesivo, todos los hijos de dos padres con esquizofrenia deberían convertirse asimismo en esquizofrénicos. En consecuencia, los estudios sobre esquizofrenia en gemelos pretenden determinar la incidencia entre gemelos idénticos y fraternos (monocigóticos y dicigóticos). La tendencia de los gemelos a presentar la misma enfermedad se llama concordancia y cuando sólo uno de los gemelos presenta la enfermedad, la pareja se describe como discordante. Los estudios de gemelos han establecido que la concordancia para la esquizofrenia en los gemelos monocigóticos es aproximadamente del 45%, mientras que en los dicigóticos es sólo del 15% casi igual que para otros hermanos (Joseph, 2006). Sin embargo la incidencia real es menor del 5%, lo cual sugiere que hay varios genes implícitos en la vulnerabilidad de la esquizofrenia

Los estudios de poblaciones de diversos tipos establecen que la herencia tiene un papel significativo, y es preciso buscar los mecanismos de estos efectos incluyendo los procesos neuroquímicos, neurofisiológicos y neuroanatómicos, aunque actualmente se ha demostrado que la esquizofrenia es un proceso multifactorial donde intervienen en su desarrollo, factores tales como infecciones tempranas, reacciones autoinmunitarias, toxinas, lesiones traumáticas y estrés, alterando el curso normal del desarrollo neural, desembocando en la esquizofrenia en personas con disposición genética (Lewis y Levitt, 2002). Por tal motivo la esquizofrenia es considerada una enfermedad del neurodesarrollo. Dicha patología ataca al 1 % de la población mundial. Su etiología precisa se desconoce pues se le considera multifactorial, se acepta que es un trastorno poligénico, cuyo origen está relacionado con estímulos ambientales adversos, como lo son las complicaciones durante la gestación y el parto, infecciones, toxinas, alteraciones hormonales y nutritivas, además de factores familiares y genéticos.



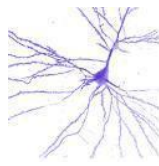
La esquizofrenia es una enfermedad compleja que no sólo se caracteriza por la presencia de la sintomatología psicótica, sino que ocasiona incapacidades psicosociales severas, que tiene que ver con las dificultades que presentan los pacientes y que afectan las diversas áreas de su funcionamiento psicosocial, como la capacidad para mantener un trabajo remunerado (área ocupacional) y en consecuencia no tener ingresos (área económica) y por lo tanto depender económicamente de la familia, la dificultad para establecer relaciones sociales, etc. (Valencia 2003).

La aparición de los síntomas de la esquizofrenia se da entre la adolescencia y la etapa de adulto joven. Se ha sugerido que la esquizofrenia puede ser causada por una alteración en el neurodesarrollo que interfiere con la maduración neuronal cortical y de otras vías neuronales (Weinberger y Lipska, 1995). Las características esenciales de la esquizofrenia son una mezcla de signos y síntomas peculiares (tanto positivos como negativos) que han estado presentes una parte significativa de tiempo durante un período de 1 mes (o durante un tiempo más breve si ha habido tratamiento con éxito) y con algunos signos del trastorno que han persistido durante al menos 6 meses (Pinel, 2006).

Estos signos y síntomas están asociados a una marcada disfunción social o laboral. La alteración no es explicable por un trastorno esquizoafectivo o del estado de ánimo con síntomas psicóticos y no es debida a los efectos fisiológicos directos de alguna sustancia o a una enfermedad médica. Además, los síntomas característicos de la esquizofrenia implican un abanico de disfunciones cognoscitivas y emocionales que incluyen la percepción, el pensamiento inferencial, el lenguaje y la comunicación, la organización comportamental, la afectividad, la fluidez y productividad del pensamiento y el habla, la capacidad hedónica, la voluntad y la motivación, y la atención.

Los síntomas característicos pueden conceptualizarse en:

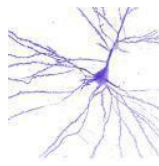
- Síntomas positivos parecen reflejar distorsiones o exageraciones del pensamiento inferencial (ideas delirantes), la percepción (alucinaciones), el lenguaje



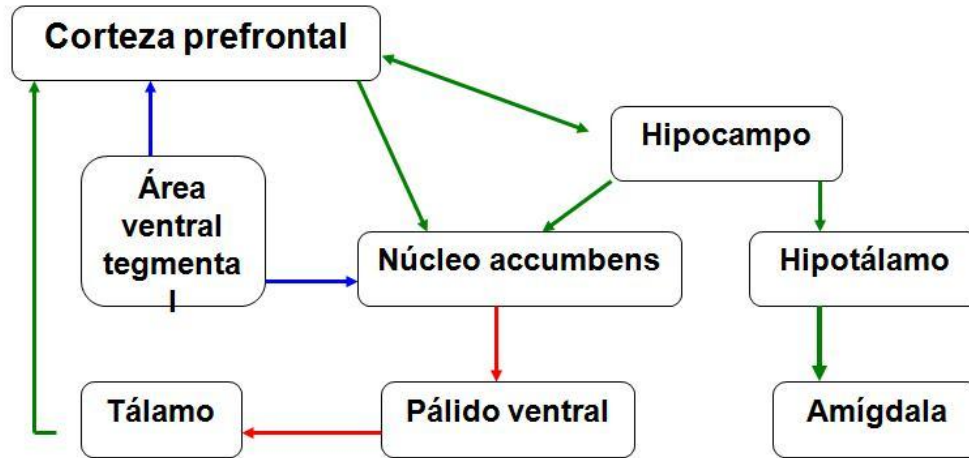
y la comunicación (lenguaje desorganizado), y la organización comportamental (comportamiento gravemente desorganizado o catatónico) (Pinel, 2006).

- Síntomas negativos reflejan una disminución o pérdida de las funciones normales que comprenden: restricciones del ámbito y la intensidad de la expresión emocional (aplanamiento afectivo), de la fluidez y la productividad del pensamiento y el lenguaje (alogia), y del inicio del comportamiento dirigido a un objetivo (abulia) (DMS-IV).

Weinberger y colaboradores (1979) realizaron tomografías de pacientes psiquiátricos, comparándolas con las de un amplio grupo de control de individuos sanos. Midiendo el tamaño ventricular, los resultados revelaron una diferencia significativa: los ventrículos de los esquizofrénicos crónicos eran mayores que los de sujetos normales. Aunque dicho aumento ventricular no estaba en relación con la duración de la enfermedad o de la hospitalización. En un estudio de seguimiento, Weinberger (1980) indicó que el grado de aumento ventricular implica una atrofia del tejido neuronal adyacente y puede predecir la respuesta del paciente a los fármacos antipsicóticos.



SISTEMA LÍMBICO



O'Donnell 1997
Seasack 1996
Jay 1995

Figura1. Esquema simplificado del sistema límbico. Con diferentes colores de flecha se representa un tipo de conexión. Abreviaturas: GABA, ácido gamma-aminobutírico; DA dopamina.

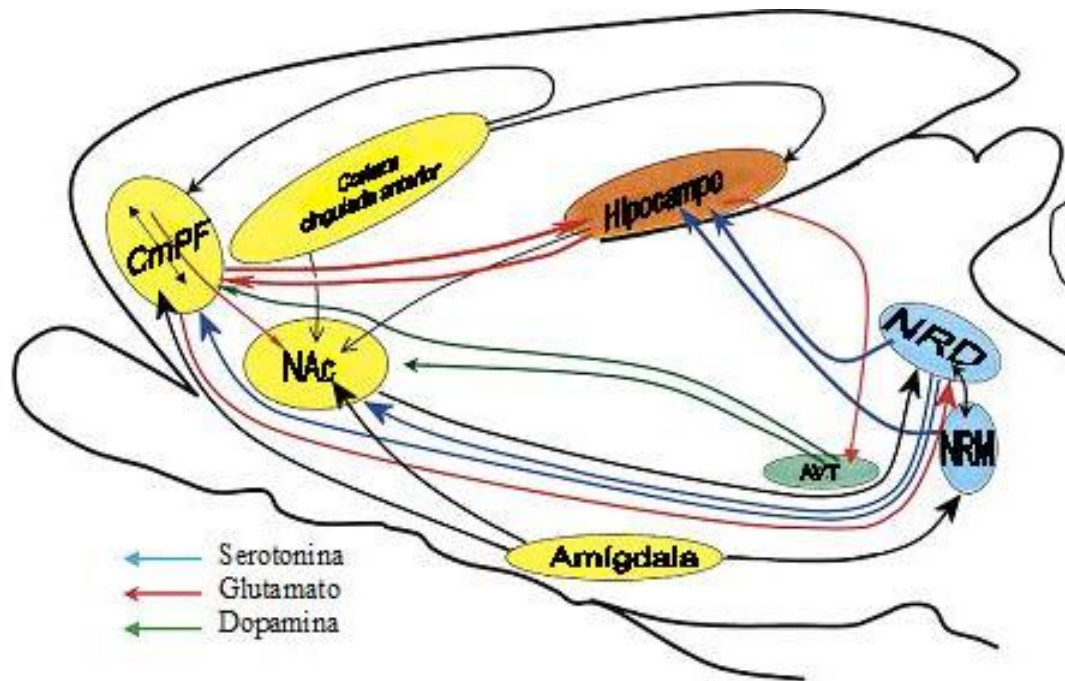
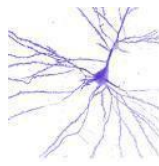


Figura 2. Esquema de las principales vías neuronales en el sistema límbico en un corte sagital. Existe una importante interacción entre estas estructuras formando redes neuronales involucradas en tareas límbicas con funciones psicológicas y conductuales. Eferencias del Rafé tanto dorsal como medial, se relacionan con el control de actividad serotoninérgica involucrada en procesos de memoria y aprendizaje. También podemos observar que se encuentra involucrada la CPF, especialmente la CPFm, así como otras vías neuroquímicas que intervienen en funciones psicológicas y conductuales.

Las principales áreas cerebrales implicadas en la fisiopatología de la esquizofrenia son los lóbulos frontales, además de estructuras límbicas como la amígdala, el hipocampo y giro parahipocámpico, y ganglios basales, en particular el núcleo estriado (conformado por el núcleo caudado y putamen) y el núcleo acumbens (figs. 1 y 2).

CORTEZA CEREBRAL

La corteza cerebral está organizada en capas celulares en las cuales, no todas las regiones corticales tienen la misma organización laminar.

Clasificación de las capas:

- La capa I es una capa acelular llamada capa molecular o plexiforme, está ocupada por las dendritas de células situadas a mayor profundidad y por axones que atraviesan o forman conexiones en esta capa.



- La capa II está compuesta fundamentalmente por pequeñas células esféricas llamadas gránulos y por lo tanto se denomina capa granular externa
- La capa III contiene diversos tipos celulares, muchos de los cuales son de forma piramidal; es típico que las neuronas localizadas en la parte más profunda de la capa III sean mayores que las más superficiales. También se le denomina capa piramidal externa o neuronal.
- La capa IV, como la II, está compuesta fundamentalmente por gránulos y se denomina capa granular interna.
- La capa V, estrato piramidal interno, está constituida fundamentalmente por células de forma piramidal que por lo general son mayores en cuanto a tamaño, que las de capa III; y se le conoce como capa piramidal interna.
- La capa VI es una capa bastante heterogénea de neuronas y se conoce también como capa polimorfe o multiforme (Fernández, 2005; Amaral, 2001).

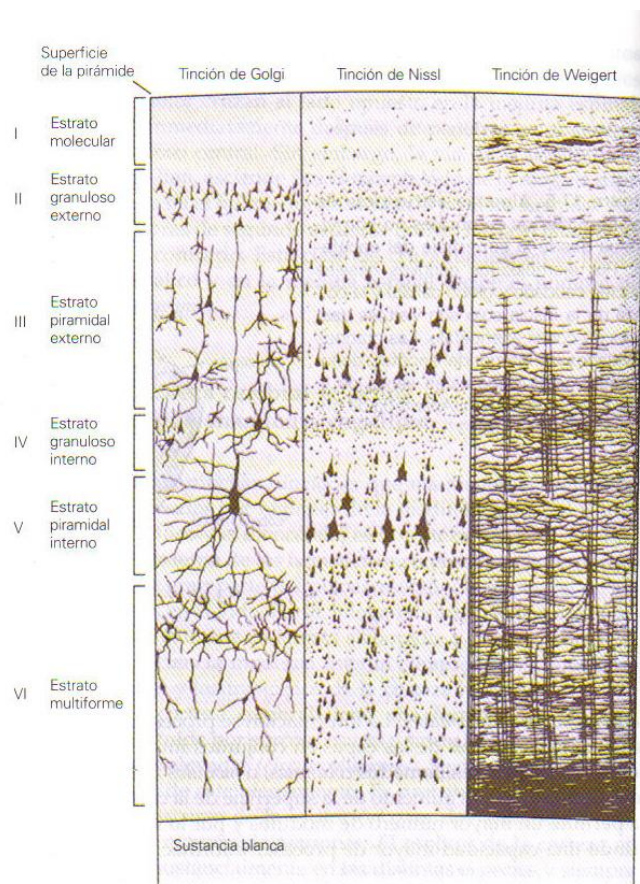
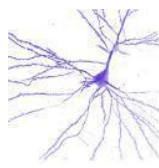


Figura 3. Esquema que muestra los diversos estratos existentes en la corteza, permitiendo localizar la capa de nuestro interés (capa III) por sus neuronas piramidales.



Las capas I a III contienen las dendritas apicales de las neuronas cuyos cuerpos celulares se sitúan en las capas V y VI. Mientras que las capas V y VI contienen las dendritas basales de las neuronas cuyos cuerpos están en las capas III y IV las neuronas de la corteza y de otros lugares, están constituidas por neuronas de proyección e interneuronas locales. Las neuronas de proyección tienen forma piramidal, localizadas fundamentalmente en las capas III, V y VI y emplean como transmisor primario al glutamato. Las interneuronas locales utilizan al GABA como trasmisor inhibitor (Amaral, 2001).

A la corteza más organizada y evolucionada se le denomina neocorteza o isocorteza, ésta recibe aferencias del tálamo, de otras regiones corticales de ambos lados del encéfalo, los ganglios basales, los núcleos de la protuberancia y la médula espinal. La corteza prefrontal media (CPFm), que pertenece a la neocorteza y se define como la región cortical que tiene una inervación recíproca con el núcleo medio dorsal del tálamo y la región terminal del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (Steketee, 2003); contiene neuronas piramidales glutamaérgicas que sirven como salida primaria de esta región; su actividad se modula por interneuronas gabaérgicas, dopaminérgicas, noradrenérgicas, glutamaérgicas, colinérgicas y aferentes peptidérgicas (Steketee y cols., 2003). Los cambios en la interacción entre estos diversos sistemas de neurotransmisión en la CPFm podrían conducir a alteraciones conductuales (Silva-Gómez y cols., 2003).

La CPF está implicada en múltiples funciones cerebrales superiores como la percepción, atención, memoria, aprendizaje, lenguaje, conciencia, etc. Participa en procesos cognitivos como la memoria de trabajo y memoria ejecutiva, así como toma de decisiones, la planeación del comportamiento y el proceso de señales emocionales (Steketee, 2003; Heidbreder, 2003). Fue originalmente descrita como la región cortical con una interacción recíproca con el núcleo mediodorsal del tálamo, se divide en región media, lateral, y el campo visual frontal. Es un componente del circuito emocional involucrado en las conductas de recompensa, incluyendo a las asociadas con el abuso de drogas.



En este momento se sabe que los traumatismos o las infecciones en el segundo trimestre del embarazo producen, posiblemente debido a una predisposición genética poligénica, alteraciones tempranas de la diferenciación neuronal o fallos en la migración, que se manifiestan como alteraciones citoestructurales (menor desarrollo de las capas superficiales de la circunvolución hipocampal, menos neuronas en la capa granular de la circunvolución dentada y la corteza entorrinal, menor número de interneuronas en la capa II de la corteza temporal lateral, la corteza prefrontal y la corteza cingulada, y mayor densidad de células piramidales de la capa V de dichas áreas).

HIPOCAMPO

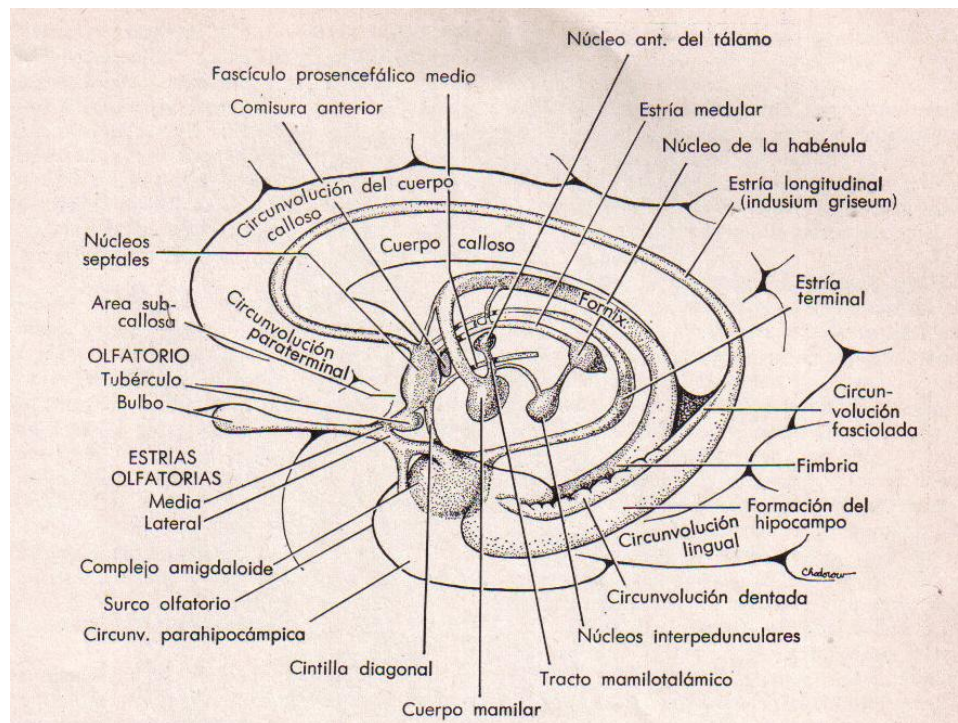


Figura 4. Esquema morfológico de humano donde se muestra el sistema límbico y sus estructuras involucradas; y para nuestro interés el hipocampo y la amígdala, áreas que se han visto involucradas en la patología de la esquizofrenia.



El hipocampo se encuentra formado por el asta de Ammón, el giro dentado y el complejo subicular. Recibe información sensorial procedente de las áreas secundarias sensoriales a través de la corteza entorrinal (Drucker, 2005). El complejo subicular se continúa lateralmente con la corteza de la circunvolución parahipocámpica y el área de la perialocorteza. Además, durante el desarrollo, la formación hipocámpica se origina dorsalmente y emigra a su posición ventral y medial en el lóbulo temporal, en dicha migración forma las estrías longitudinales medial y lateral junto con una estructura gris. Mientras que la circunvolución dentada y el hipocampo están compuestos de 3 capas. A) La capa externa es la capa molecular y contiene axones aferentes y dendritas de las células intrínsecas. B) La capa media, la capa granular en el giro dentado y la capa piramidal del hipocampo, contienen a las neuronas eferentes. Las dendritas de las células granulares y piramidales irradian hacia el interior de la capa molecular. La capa interna, la capa multiforme, posee los axones de las células piramidales y granulares. C) La capa multiforme del hipocampo bordea la pared del ventrículo lateral y es una capa de axones mielínicos que surgen de los cuerpos celulares situados en el complejo subicular.

El hipocampo puede dividirse en cuatro regiones o áreas designadas como (CA, Cuerno de Ammón) CA1-CA4. El área CA1 se localiza en el límite entre el subículo y el hipocampo; CA2 es zona mixta, CA3 dentro del hipocampo, CA4 se encuentra en la unión del hipocampo con el giro dentado.

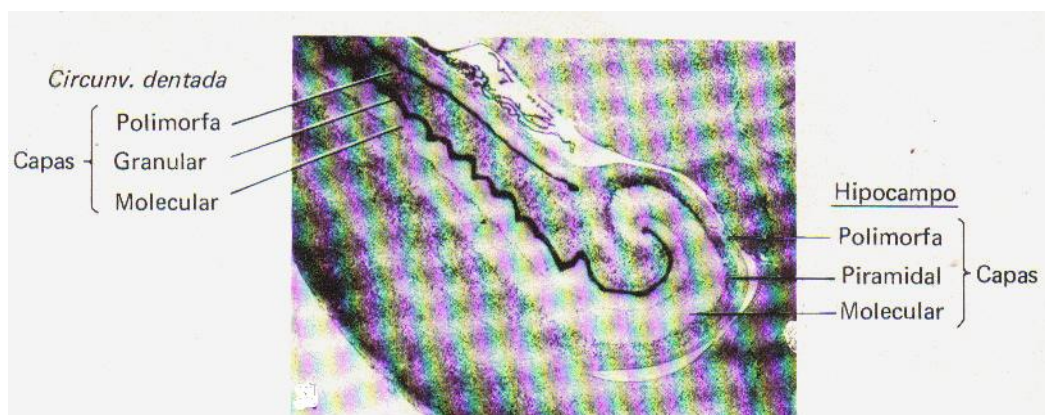
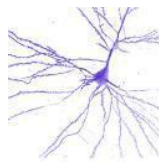


Figura 5 Esquema de un corte sagital del hipocampo, permitiendo apreciar las capas celulares que lo conforman, las cuales se relacionan con las regiones o áreas designadas como CA1- CA4, cuya actividad se relaciona con los mecanismos de memoria y aprendizaje, potenciación a largo plazo, comunicación con otras áreas como la corteza relacionada con la conducta, las motivaciones y emociones.



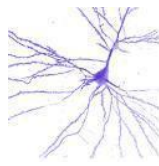
Vías aferentes. La principal información de la formación hipocámpica procede de las células de la corteza entorrinal a través de la vía perforante, cuyas fibras finalizan en la capa molecular del giro dentado, y pocas terminan en el subículo y el hipocampo. Las células granulares del giro dentado proyectan hacia la capa molecular de la región CA3 del hipocampo y se conectan con el área CA1, enviando información al subículo; el subículo también recibe proyección desde el complejo amigdalino. Aunque el fórnix también es una vía aferente al hipocampo que transporta proyecciones colinérgicas septohipocámpicas a la formación hipocámpica y a la corteza entorrinal.

Vías eferentes. Se originan principalmente en las células del subículo, y en menor medida en las células piramidales del hipocampo. Los axones de estas neuronas entran al álveo, confluyen para formar la fimbria del hipocampo construyendo el fórnix. Estas fibras glutamatérgicas atraviesan toda la longitud del fórnix, aunque algunas cruzan la línea media en la decusación del hipocampo al esplenio del cuerpo calloso.

A nivel de la comisura anterior, el fórnix se divide en sus partes poscomisural y precomisural. La mayor parte de estas fibras terminan en el núcleo mamilar medial, aunque algunas entran en el núcleo ventromedial del hipotálamo y los núcleos anteriores del tálamo. El fórnix precomisural está compuesto por fibras que en su mayoría se originan en el hipocampo, localizándose sus fibras por los núcleos preóptico y anterior del hipotálamo y el núcleo accumbens.

El circuito de Papez. Su segmento inicial es principalmente una proyección del subículo al núcleo mamilar medial a través del fórnix poscomisural, un fascículo mamilotalámico conecta el núcleo mamilar medial con los núcleos anteriores del tálamo, las fibras talamocorticales desde los núcleos anteriores hacia la corteza de la circunvolución cingular y de la corteza cingular a la corteza entorrinal a través del cíngulo y directamente al subículo y al hipocampo.

Otras áreas de la corteza cerebral se ven incorporadas a las diversas funciones desempeñadas por el circuito de Papez. Mientras que la corteza cingular recibe



información de las áreas premotora y prefrontal así como de las cortezas asociativas visual, auditiva y somatosensorial.

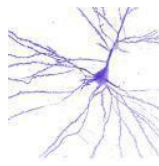
COMPLEJO AMIGDALINO.

Es un grupo de células en forma de almendra que se encuentra en la parte rostromedial del lóbulo temporal, profundo al uncus. Queda rostral a la formación hipocámpica y al extremo anterior del asta temporal del ventrículo lateral. El complejo amigdalino se compone de varios núcleos, los del grupo basolateral y corticomedial.

Vías aferentes. Los grupos celular y basolaterales de la amígdala reciben información desde el tálamo, la corteza prefrontal, las circunvoluciones del cíngulo y parahipocámpica, el lóbulo temporal y la corteza de la ínsula, y el subículo. Suministrando amplia información somatosensorial, visual y visceral al complejo amigdalino. El grupo celular corticomedial recibe información olfativa, fibras del hipotálamo y desde los núcleos dorsomedial y medial del tálamo, este grupo celular, recibe información ascendente de los núcleos del tronco del encéfalo que participan en las funciones viscerales, como los núcleos parabranciales, el núcleo solitario y parte de la sustancia gris periacueductal.

Vías eferentes. Son 2 vías principalmente, la estría terminal y la amigdalofugal ventral. La estría terminal es un pequeño haz de fibras que origina principalmente en las células del grupo corticomedial, este haz se encuentra en el surco entre el núcleo caudado y el tálamo, se asocia a células agregadas y en su conjunto se llaman núcleo del lecho de la estría terminal, cuyo haz se distribuye por varios núcleos del hipotálamo, el NAcc y los núcleos septales, además de las áreas rostrales del núcleo caudado y del putamen.

La vía amigdalofugal ventral es el principal haz de fibras eferentes del complejo amigdalino. Estos axones se originan tanto en el grupo celular basolateral como en el núcleo central corticomedial, y siguen 2 trayectorias generales. Los axones que provienen en su mayor parte de las células basolaterales, adoptan una dirección medial a través de la sustancia innominada, haciendo sinapsis en el hipotálamo y los



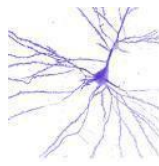
núcleos septales. La sustancia innominada da origen a una proyección colinérgica difusa hacia la corteza cerebral. Asimismo, las células del grupo basolateral también proyectan, de forma difusa hacia las cortezas prefrontal, del cíngulo, insular y temporal inferior. Otra ruta a través de la cual las proyecciones del hipocampo y la amígdala, influyen sobre el tronco del encéfalo, es la estría medular del tálamo. Este haz transporta fibras de los núcleos septales, que son el destino de las conexiones amigdalinas e hipocámpicas, hacia los núcleos habenuointerduncular, que proyecta hacia el núcleo interpeduncular y a otros puntos del mesencéfalo, como el AVT y sustancia gris periacueductal.

NÚCLEO ACCUMBENS

Está localizado en el prosencéfalo rostral y ventral, donde se continúan la cabeza del núcleo caudado y el putamen. Las principales células de este núcleo, reciben información del complejo amigdalino, principalmente de la vía amigdalofugal ventral, de la formación hipocámpica vía el fornix precomisural, y de las células del núcleo del lecho de la estría terminal. Como ya se mencionó, el AVT también da origen a las fibras ascendentes que entran al núcleo accumbens a través del fascículo telencefálico medial, también entran las fibras amigdalofugales que atraviesan la estría terminal. Las células del núcleo accumbens tienen receptores para diversos neurotransmisores, incluidos los opioides endógenos, pudiendo desempeñar un papel importante en conductas relacionadas con las adicciones. Mientras que las proyecciones eferentes del núcleo accumbens incluyen fibras que van hacia el hipotálamo, los núcleos del tronco del encéfalo y el globo pálido, cuyas fibras representan una ruta importante por la cual se puede acceder al sistema motor.

NÚCLEO CAUDADO

Se divide en 3 partes: cabeza (porción más gruesa), cuerpo y cola.



La cabeza es la región más voluminosa que se ubica en el cuerno anterior del ventrículo lateral.

Entre la cabeza del núcleo caudado y el núcleo putamen se encuentran puentes de sustancia gris que los comunican. Esto da el aspecto de estriaciones que han dado el nombre de cuerpo estriado a estos dos núcleos en conjunto.

El cuerpo del núcleo caudado es largo y estrecho, se extiende entre el agujero interventricular por delante y el extremo posterior del tálamo por detrás. Éste forma parte del piso del cuerpo del ventrículo lateral.

Por último, la cola del caudado es delgada y alargada, extendiéndose a continuación del cuerpo contorneando al tálamo y formando el techo del cuerno temporal del ventrículo lateral. Termina en el núcleo llamado complejo amigdalinoide o amigdalino.

Se propone que los síntomas negativos de la esquizofrenia se deben a una hipoactividad dopaminérgica de la vía mesocortical, mientras que las alucinaciones, los delirios y el comportamiento extravagante son síntomas relacionados con una hiperactividad dopaminérgica mesolímbica, todo esto en consecuencia a una mala regulación del mecanismo compensatorio de retroalimentación que parte del circuito mesocorticoprefrontal dorsolateral. De acuerdo a este modelo las alteraciones prefrontales dorsolaterales inducirían una hipoactividad dopaminérgica mesocortical, que podría posteriormente determinar una hiperactividad compensatoria de los mecanismos dopaminérgicos mesotelencefálicos (sistema nigroestriatal, mesolímbico y mesopiriforme) siendo la responsable de la expresión de síntomas positivos en la esquizofrenia.

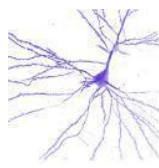
Una vez mencionadas las áreas involucradas en la patología de la esquizofrenia, es bueno conocer algunos de los tratamientos que han resultado en el manejo de la misma; el desarrollo de tratamientos eficaces como los neurolépticos, los antidepresivos y en su momento el carbonato de litio, hizo del diagnóstico un tema clínico importante. Durante muchos años la explicación más aceptada sobre la fisiopatología de los síntomas de la esquizofrenia fue la hipótesis dopaminérgica, que sugería que los síntomas se deben principalmente a una hiperactividad del sistema



dopaminérgico (Carlsson, 1988; Davis y cols., 1991). De tal manera que la hipótesis dopaminérgica se vio apoyada en gran parte por la observación de que la eficacia de muchos neurolépticos utilizados para tratar la esquizofrenia se correlacionaba claramente con su capacidad para bloquear los receptores D₂ de la dopamina (Creese y cols., 1976; Seeman y cols., 1976).

Trabajos recientes en neurofarmacología y anatomía química han demostrado que existen cinco tipos de receptores de la dopamina que difieren en su distribución cerebral. El receptor D₁ está acoplado a la adenilciclasa y está localizado en la corteza cerebral y en los ganglios basales. El receptor D₂ está acoplado tanto a la adenilciclasa como a fosfatidilinositol y es prominente en el estriado. Los receptores D₃ y D₄ se distribuyen en las regiones límbicas. Esta distribución cuestiona la hipótesis clásica de la dopamina, ya que las regiones límbicas (o, por otra parte, las regiones frontales o temporales) se han supuesto zonas blanco para la acción de los neurolépticos, ya que los receptores D₂ no están concentrados densamente en estas regiones concretas.

La experimentación con animales muestra que los neurolépticos producen una hipersensibilidad de los receptores en respuesta a su bloqueo, que se traduce en un aumento del número de receptores D₂ disponibles. Por lo tanto, el aumento de receptores D₂ en los cerebros post mortem podría deberse simplemente a una respuesta al tratamiento con neurolépticos. Se ha observado que los agonistas de la dopamina, como la apomorfina, también puede producir pérdida de la regulación sensorial inhibición por prepulso y que tanto los atípicos restauran dicha inhibición por prepulso en las ratas tratadas con apomorfina, de una manera que se correlaciona con su eficacia clínica, lo que sugiere que este modelo puede servir como detector de medicamentos neurolépticos, utilizando una medida cognitiva que puede estar relacionada con el déficit neural subyacente de la esquizofrenia (Swerdlow y Geyer, 1993).

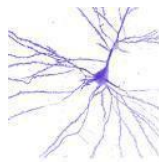


Se han propuesto hipótesis bioquímicas alternativas, en parte debido a la dificultad de confirmar la hipótesis dopaminérgica y al observar que los agentes antidopaminérgicos no siempre son eficaces. Las hipótesis más recientes también incluyen el papel de otros sistemas de neurotransmisores (noradrenalina, serotonina, glutamato, ácido gamma-aminobutírico [GABA] y neuropéptidos) en la psicofisiología de la esquizofrenia (Meltzer, 1987; VanKammen y cols., 1990). Sin embargo los antipsicóticos han constituido el pilar principal del tratamiento de la esquizofrenia, desde que en 1952 se introdujo la clorpromacina. Actualmente muchos antipsicóticos convencionales están disponibles, cada uno con su distinta potencia y efectos secundarios, pero con un modo de acción y eficacia similares. Su mecanismo de acción se basa en la capacidad de bloquear los receptores D₂ dopaminérgicos postsinápticos situados en el sistema límbico. Se cree que este bloqueo inicia la serie de acontecimientos que causan las acciones terapéuticas agudas y crónicas.

Aunque muchos efectos secundarios de los antipsicóticos pueden atribuirse directamente a sus propiedades bloqueantes de la dopamina, estas sustancias también bloquean los receptores noradrenérgicos, colinérgicos e histamínicos a diferentes niveles, lo que explica el perfil único de efectos secundarios de cada agente. Mientras que los síntomas extrapiramidales son una limitante clara al tratamiento antipsicótico, siendo marcadores de malos resultados a largo plazo. Se ha visto una relación directa entre los síntomas motores y síndrome deficitario secundario a neurolépticos, alteraciones cognoscitivas, depresión y alto riesgo de desarrollar discinesia tardía. Además la discinesia tardía aparece después de exposición a neurolépticos por períodos prolongados. Se produce por regulación positiva de receptores D₂ en respuesta a bloqueo crónico

MODELOS ANIMALES DE ESQUIZOFRENIA

Aunque existen grandes avances en neurofarmacología, no se ha tenido una gran orientación en la comprensión de la esquizofrenia con un enfoque neuroquímico y neuroanatómico (Marcotte, 2001). Por lo que la exploración de desordenes mentales



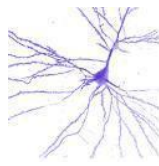
humanos ha necesitado ser sustentable, lo que requiere de modelos animales. Convencidos de la utilización de modelos animales que contribuyan a un mejor entendimiento de las disfunciones psiquiátricas, los modelos animales se conciben sobre la base de que las alteraciones en las actividad neuronal se ven reflejadas en los cambios de la conducta tanto humana como animal; así cualquier modelo puede desarrollarse para ser probado y así contribuir con teorías preventivas y causales en pro del entendimiento de la patología. Un modelo animal en esquizofrenia: es una manipulación que obtiene u observa cambios neuronales y conductuales que pueden relacionarse con la esquizofrenia, empleando un criterio predictivo y constructivo con miras de validez y aplicación en humanos (Marcotte, 2001).

▪ MODELO FARMACOLÓGICO

Los modelos animales de esquizofrenia se basan en el entendimiento y conocimiento de varios sistemas de neurotransmisión aunque proporcionan poco conocimiento en las bases del pensamiento y cognición, sin embargo proporcionan la validez predictiva ya que involucra modelos farmacológicos que emplean la administración de drogas que induzcan o exacerben los síntomas esquizofrénicos en humanos (Marcotte, 2001). El mejor modelo farmacológico de esquizofrenia se basa en la hipótesis de la dopamina (DA), utilizando a la anfetamina para simular las consecuencias de un tono dopaminérgico aumentado.

▪ MODELOS DE LESIÓN

Ha existido un debate en cuanto si se le considera como enfermedad neurodegenerativa o como un desorden del neurodesarrollo. Al existir un deterioro clínico, se sugiere que sea un proceso neurodegenerativo el que esté involucrado (Lipska, 2004). Alargamiento de los ventrículos laterales y decremento del volumen cortical podría indicar que es un proceso neurodegenerativo, pero el tamaño ventricular no se ha visto correlacione con la duración de la patología, y además no se observa evidencia de gliosis, la cual indicaría que no hay una condición neurodegenerativa, pero la ausencia de gliosis sugiere que los eventos



neuropatológicos pueden impedir que ocurran una respuesta de las células gliales a la lesión.

La teoría del neurodesarrollo de esquizofrenia postula que las condiciones patogénicas que conducen a la esquizofrenia ocurren en edad media de vida intrauterina, pues afectaría la neurogénesis que conllevan a anormalidades estructurales celulares y de conectividad.

Algunos modelos de esquizofrenia se han basado en el concepto de lesiones pre- o perinatales, implicando a las complicaciones obstétricas como la isquemia, hemorragia o agentes infecciosos, donde podría existir muerte celular y mal desarrollo de conectividad neuronal, pudiendo provocar algunos cambios citoarquitectónicos como los observados en la esquizofrenia (Lipska, 2004).

En algunos estudios como por ejemplo, cesárea e hipoxia perinatal o anoxia en ratas, se ha mostrado un incremento de respuesta dopaminérgica a psicoestimulantes y al estrés, Aunque estos modelos proporcionan cierto grado de validez, se requeriría determinar el mecanismo de acción de las complicaciones obstétricas en la esquizofrenia (Flores, 2005).

▪ MODELO DE LESION NEONATAL

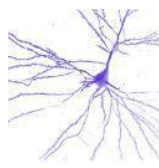
Un gran número de modelos con lesión neonatal han sido desarrollados, como soporte a la teoría del neurodesarrollo en esquizofrenia, cuyas ventajas, son las de demostrar los síntomas que corresponden a esquizofrenia en humanos. Las lesiones neonatales en hipocampo ventral o corteza prefrontal en ratas han sido empleados como modelos para probar la hipótesis de que anormalidades en el neurodesarrollo conllevan un cambio conductual vinculado putativamente con la esquizofrenia.

Ratas adultas con lesión neonatal excitotóxica en hipocampo ventral (LnHV) han sido utilizadas como un modelo de la etiopatología de la esquizofrenia (Lipska y Weinberger, 2000; Marcotte, 2001). Además numerosos estudios se han centrado en



el daño del hipocampo en ratas y en monos, al ser un modelo potencial de esquizofrenia, pues varios cambios funcionales y estructurales han sido implicados con los de la esquizofrenia humana (Lipska, 2004). Hipotéticamente la lesión neonatal del hipocampo podría interrumpir el desarrollo de prolongaciones en la circuitería cortical y subcortical en la cual el hipocampo participa. Se previó que en la lesión se involucren regiones del hipocampo que proyectan a la corteza prefrontal (hipocampo ventral y subículo ventral), cuyas regiones corresponden al hipocampo anterior en humanos, el que muestra anomalías anatómicas en pacientes esquizofrénicos (Suddath, 1990). Además en estudios recientes se ha demostrado que las ratas adultas con LnHV muestran una sensibilidad amplificada al abuso de drogas y un déficit en los mecanismos de recompensa (Chambers, 2002).

En la LnHV también encontramos un incremento en la actividad locomotora, así como una disminución en la interacción social y disminución de la actividad de acicalamiento. Además en las neuronas piramidales de la CmPF, encontramos una reducción en la longitud dendrítica, disminuye también la densidad de espinas dendríticas, así como también disminuyen los marcadores moleculares de plasticidad neuronal (Bertolino, 2002), hay un aumento en excitabilidad de las neuronas piramidales por la estimulación desde el área ventral tegmental (AVT) (Flores, 2005). El modelo de lesión en hipocampo ventral en edad neonatal en ratas, produce un cambio conductual propio de la esquizofrenia. En un principio se tiene una conducta aparentemente normal en edad prepúber, sin embargo, después del día 56 muestran una hiperrespuesta a agonistas dopaminérgicos, a estresores, una sensibilidad aumentada a antagonistas NMDA, déficit en integración sensoriomotora y alteración en aprendizaje espacial (Flores, 2005). Todo esto probablemente debido a una organización anormal durante el desarrollo sea en el hipocampo o en regiones donde se conecta el hipocampo. Otra zona involucrada en la organización y función es la corteza prefrontal, quien recibe proyecciones del hipocampo ventral.

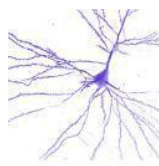


Actividad locomotora y LnHV

Hay una hiperactividad transitoria en los primeros 10 minutos de la prueba (actividad locomotora) observado en los animales lesionados (Flores, 1996), y una hiperlocomoción con una administración de anfetamina; este patrón se ve muy parecido tanto en lesión del hipocampo ventral (LnHV) y en lesión en corteza prefrontal (LnCPF). Se sugiere que en la lesión del hipocampo ventral en edad neonatal, pueden afectar espontáneamente la respuesta motora al alterar la estructura y/o función cortical prefrontal. Además hay una disminución en el acicalamiento en ratas con LnHV (Silva- Gomez y cols., 2003), sugiriendo de igual manera que la conducta es consecuencia de la lesión (LnHV), estando relacionada con el desarrollo de proyecciones del hipocampo hacia la corteza, lo cual es esencial para la conducta de acicalamiento. El acicalamiento es una conducta compleja la cual se encuentra regulada por diversos sistemas neurotransmisores y diversas estructuras como el hipocampo. Sin embargo cuando hay lesiones en el área ventral tegmental, se produce un acicalamiento agresivo (Flores y cols., 2005). Y cuando hay destrucción del hipocampo se reduce el acicalamiento.

Es importante enfatizar que hay evidencias anatómicas en estudios postmortem, neuropsicológicos y por estudios de neuroimagen, que la función cerebral de pacientes con esquizofrenia ha implicado un mal desarrollo corteza prefrontal y una desconexión con las cortezas temporolímbicas y prefrontales. Algunos de los cambios conductuales que hacen válido el modelo de esquizofrenia son (Lipska, 2004):

- Cambios celulares, moleculares y morfológicos en el cerebro.
- Respuesta incrementada al estrés, a los antagonistas del N-metil-D-aspartato y a los agonistas dopaminérgicos.
- Alteraciones en la regulación sensomotora en la inhibición inicial de prepulso y déficit en inhibición latente.
- Disminución en la sensibilidad para provocar un estímulo compensatorio.
- Sensibilidad a drogas neurolépticas
- Alteración en la memoria
- Vulnerabilidad al abuso de drogas
- Deficiente interacción social



CLOZAPINA ANTIPSICÓTICO ATÍPICO

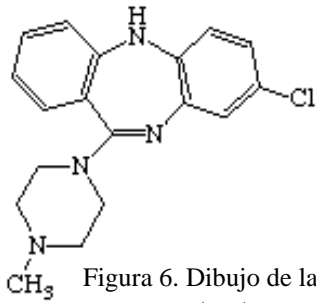


Figura 6. Dibujo de la estructura molecular de la clozapina

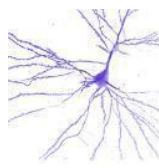
El primero de los neurolépticos atípicos fue la clozapina, una dibenzodiazepina, cuyo desarrollo químico se completó en 1958 y que se usó en un ensayo clínico por primera vez en 1961.

La clasificación de atípico se debía a que, frente al antagonismo principalmente D_2 , los neurolépticos clásicos, presentaba un perfil farmacológico claramente diferente. Así, la clozapina muestra un antagonismo débil sobre los receptores D_2 , y una afinidad mucho mayor por los receptores D_4 . Además este fármaco presenta también una alta afinidad por otros receptores como los H_1 , $5HT_{1C}$, $5HT_2$, ó los muscarínicos M_1 y M_4 .

Receptores	Clozapina	Olanzapina	Sertindol	Risperidona	Quetiapina	Ziprasidona	Amperozida	Haloperidol
Dopamina D_1	53	10	12	21	390	9,5	260	15
Dopamina D_2	36	2,1	0,45	0,44	69	2,8	140	0,82
$5-HT_{1A}$	710	7.100	2.200	21	> 830	37	3.100	2.600
$5-HT_{2A}$	4	1,9	0,2	0,4	82	0,25	20	28
$5-HT_{2C}$	5	2,8	0,51	6,4	1.500	0,55	440	1.500
$5-HT_6$	4	2,5	5,4	425	33	-	67	> 5.000
$5-HT_7$	14	110	28	1,5	290	4,9	550	320
Adrenoceptores α_1	3,7	7,3	1,4	0,7	4,5	1,9	130	7,3
Adrenoceptores α_2	51	140	280	1,8	1.100	390	590	1.600
Histamina H_1	17	5,6	440	88	21	510	730	> 730
Muscarínicos	1	2,1	260	> 5.000	56	> 10.000	1.700	570

Figura 7. Tabla que muestra las constantes de asociación de algunos receptores ante la exposición de diversos antipsicóticos, Mostrando que existe una mayor afinidad entre la clozapina y receptores serotoninérgicos $5HT_{2A}$ y muscarínicos, y de menor afinidad con $5HT_{1A}$.

Pero la gran aportación de la clozapina fue que, al contrario los neurolépticos clásicos, producía a dosis terapéuticas en humanos una mejoría de los síntomas tanto negativos como positivos de la esquizofrenia con mínimos efectos secundarios extrapiramidales. Esta disminución o ausencia de síntomas extrapiramidales durante el tratamiento con clozapina se podía deber al hecho de que a las dosis utilizadas este fármaco ocupa sólo un 65% de los receptores D_2 , frente a porcentajes superiores al 75% que se producen con los neurolépticos clásicos. Se ha postulado que porcentajes superiores al 75% de ocupación de los D_2 podrían ocasionar la aparición de síntomas extrapiramidales lo que explicaría la ausencia de este tipo de síntomas en el



tratamiento con clozapina. A partir del relativo éxito de la clozapina aparecieron nuevos neurolépticos atípicos (risperidona, sertindol, olanzapina, etc.), y diversos estudios trataron de ahondar en el mecanismo de acción de estos nuevos antipsicóticos y en el porqué de sus ventajas sobre los neurolépticos clásicos.

La propia definición de atípico se basa en la evidencia clínica de que existe en estos fármacos una amplia diferencia entre la dosis usada para el control de la psicosis y aquella que produce efectos secundarios extrapiramidales (ESE). Así mismo, se podría tomar en cuenta también una cierta superioridad clínica de los neurolépticos atípicos sobre los clásicos con relación en determinados aspectos como la eficacia en reducir los síntomas negativos de la esquizofrenia, o en pacientes resistentes al tratamiento. La separación entre eficacia clínica y producción de sintomatología extrapiramidal define a este grupo de antipsicóticos. Más allá de la importante ventaja que implica este hecho, superan a los antipsicóticos convencionales en el tratamiento de los síntomas negativos.

Por un lado, no producen el síndrome extrapiramidal inducido por los neurolépticos típicos, además de causar mejoría de los síntomas negativos primarios de la esquizofrenia o inherentes a ella. Por su mecanismo de acción, trascienden la teoría dopaminérgica sobre la etiología del cuadro. Bloquean, como los convencionales, receptores dopaminérgicos D_2 y suman el antagonismo serotoninérgico $5HT_{2A}$. Incluyen, por tanto, la interacción entre los sistemas de neurotransmisión dopaminérgico y serotoninérgico. De lo anterior, los neurolépticos típicos presentan:

- Menor incidencia de discinesia tardía
- Mejoría de síntomas negativos
- Bloqueo serotoninérgico – dopaminérgico

El bloqueo D_2 en la vía mesolímbica, explica la disminución de los síntomas positivos. Pero hay otras dos cualidades: la menor incidencia de efectos adversos y la mayor eficacia sobre síntomas negativos- vinculadas al bloqueo $5HT_{2A}$ en otras vías.

La vía nigroestriatal (fig. 8), va de la sustancia nigra al estriado y controla los movimientos. En ella, la serotonina se opone a la liberación de dopamina. El bloqueo



5HT_{2A} revierte el bloqueo D₂. Explica la baja producción de ESE o discinesias tardías. Las neuronas de la formación reticular mesencefálica y de la pars compacta de la sustancia nigra establecen conexiones sinápticas con el caudado, putamen y núcleo amigdalosoide central. Existen dos vías nigroestriales: directas (D₁, mediadas por taquicininas) que van al segmento interno del globo pálido, y las indirectas (D₂, mediadas por encefalinas), que van al segmento externo.

La vía tuberoinfundibular va del hipotálamo a la glándula pituitaria. Como en la vía anterior, la serotonina inhibe la liberación de dopamina. Habitualmente la dopamina inhibe la prolactina y, a la inversa, la serotonina la estimula. El bloqueo D₂ causa hiperprolactinemia pero el 5HT_{2A} revierte esta acción. Por la regulación recíproca sobre el sistema, dopamina y serotonina se anulan mutuamente. Los atípicos tienen, por lo tanto, menor tendencia a elevar las concentraciones de prolactina.

En la vía mesocortical (fig. 8), el déficit primario de dopamina estaría involucrado en los síntomas negativos de esquizofrenia. Los antipsicóticos atípicos pueden incrementar la liberación de dopamina en esta vía por el bloqueo presináptico y esto correlaciona con su eficacia sobre la dimensión negativa de la esquizofrenia. Además las proyecciones mesocorticales no procesan información por sí mismas, están involucradas en la cognición y modulación de los mecanismos de motivación y recompensa por medio de la disminución de señales débiles y la potenciación de señales fuertes.

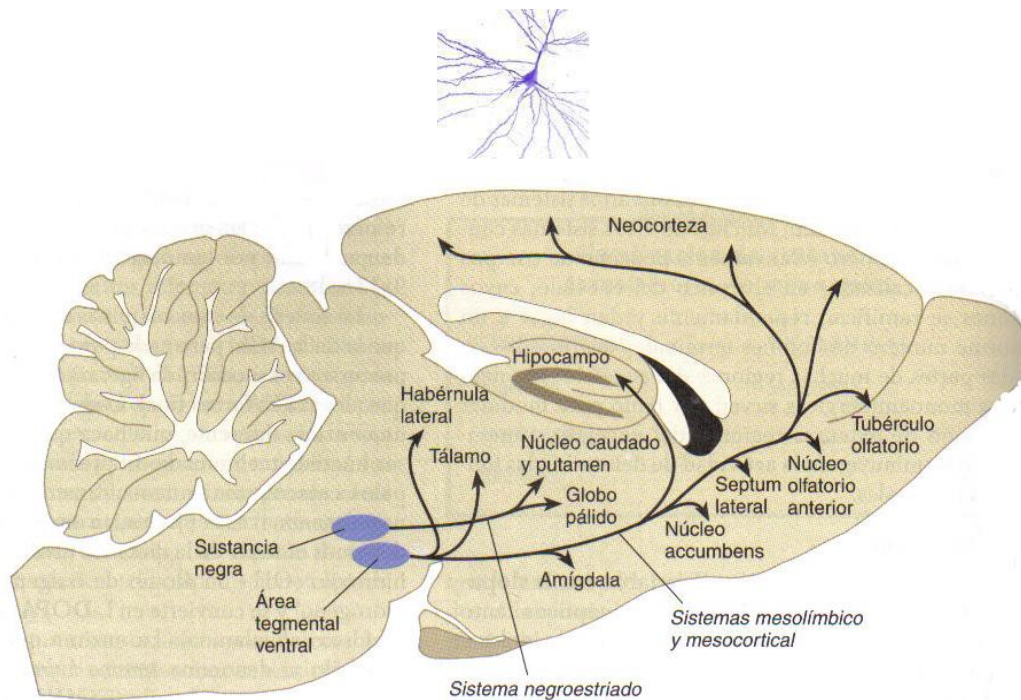
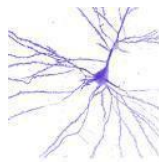


Figura 8. Esquema del sistema mesolímbico-cortical del cerebro de una ratona, involucrado en el modelo de esquizofrenia a través de la teoría dopaminérgica, mostrando las localizaciones de los grupos de neuronas dopaminérgicas más importantes y la distribución de sus botones terminales

En la vía mesolímbica (fig. 8), las neuronas del mesencéfalo y área tegmental ventral hacen conexiones sinápticas en núcleo accumbens, tubérculo olfatorio, estria terminalis, septum lateral y regiones de la corteza cerebral frontal, entorrinal y del cíngulo.

El proceso de síntesis de la dopamina y las catecolaminas se realiza a partir de la fenilalanina de la dieta, que luego de ser transformada en tirosina, es incorporada en las terminales nerviosas dopaminérgicas por difusión facilitada; la hidroxilación de la tirosina, por la acción de la enzima tirosina-hidroxilasa (TH), lleva a la formación de L-dopa, que es a su vez descarboxilada a dopamina en las vesículas presinápticas (McGonigle y Molinoff, 1994). El exceso en el almacenamiento de dopamina inhibe la TH. El exceso de liberación sináptica de dopamina estimula la acción de la TH e incluso induce la producción de nuevas enzimas en el soma neuronal. Una característica de las neuronas dopaminérgicas es que ellas pueden liberar la dopamina no sólo de las terminales presinápticas, sino también de los cuerpos celulares y las dendritas.

La dopamina es un neurotransmisor involucrado en funciones como el pensamiento, la toma de decisiones y el movimiento corporal. También participa en la exaltación



del ánimo, en la activación comportamental, en la conducta agresiva y en la conducta sexual. Las neuronas dopaminérgicas tienen su soma (cuerpo) en varios núcleos ubicados en una porción del tallo cerebral llamada mesencéfalo. Estos núcleos se denominan área tegmental ventral y sustancia nigra. Estas neuronas poseen axones que proyectan a diferentes regiones cerebrales como:

- 1) los ganglios basales (striatum) que tienen que ver con la modulación de los movimientos corporales y que se ve comprometido en la enfermedad de Parkinson (sistema nigroestriatal).
- 2) el sistema límbico relacionado con la expresión y experimentación de sentimientos y emociones (sistema mesolímbico).
- 3) la corteza cerebral, involucrada en el pensamiento y control de las emociones (sistema mesocortical)

Adicionalmente, las vías dopaminérgicas son parte del sistema tuberoinfundibular que permite la interrelación de estructuras encefálicas con el sistema endocrino a través de neuronas que van desde el hipotálamo hasta la hipófisis.

La dopamina se une a varios tipos de receptores: D₁-D₅. Para tener en cuenta: Los receptores D₅ son similares en su mecanismo de acción a los D₁, y los receptores D₃ y D₄ a los D₂. La unión de la dopamina a sus receptores es rápida y corta.

Los receptores D₁ son responsables de mantener a los receptores D₂ en un estado de desensibilización. Este control parece estar perdido en los trastornos psicóticos. En esquizofrenia no se han llevado a cabo estudios para evaluar el potencial efecto antipsicótico de agonistas D₁. Mientras que los receptores D₂ se encuentran en gran cantidad a nivel del sistema límbico, los ganglios basales y la hipófisis. Son bloqueados por la mayoría de antipsicóticos clásicos como el haloperidol, lo que explica el efecto adverso producido por estos medicamentos: apatía, extrapiramidalismo y galactorrea.



Los receptores D₃ se localizan en forma casi selectiva en áreas límbicas. Mientras que Los receptores D₄ se han encontrado en gran cantidad en los tejidos cerebrales de pacientes esquizofrénicos.

Receptores de Dopamina			
RECEPTOR	MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN	LOCALIZACIÓN	FUNCIONES
D ₁	Proteínas G _s , aumento del AMPc	Cuerpo estriado, núcleo <i>accumbens</i> y corteza	Acciones postsinápticas de la dopamina
D ₂	Proteínas G _i , disminución del AMPc	Sustancia negra y área del tegmento ventral Cuerpo estriado y núcleo <i>accumbens</i> Interneuronas colinérgicas Hipófisis Zona quimiorreceptora reguladora del vómito	Bloqueo de la descarga de neuronas dopaminérgicas Inhibición presináptica de la síntesis y liberación de dopamina Inhibición de la liberación de acetilcolina Inhibición de la secreción de prolactina Estimulación de la emesis

Figura 9. Tabla que esquematiza los tipos de familias de receptores dopaminérgicos, donde se incluye el mecanismo de transducción de unión con su respectiva proteína G, así como la localización diversas estructuras del encéfalo, y las funciones que realiza en sitios localizados.

Hay 5 receptores de DA; Los de la familia D1 (D₁ y D₅) se acoplan a proteínas G_s, de localización postsináptica y los de la D2 (D₂, D₃ y D₄) acoplados a proteínas G_i (Fig. 10), que son receptores tanto pre- como post- sináptico, el autorreceptor, pertenece a este grupo que está involucrado en la regulación de la actividad de las neuronas dopaminérgicas (Bahena y Flores, 2000).

Trabajos recientes en neurofarmacología y anatomía química han demostrado que los cinco tipos de receptores de la dopamina difieren en su distribución cerebral. El receptor D₁ está localizado en la corteza cerebral y en los ganglios basales; el receptor D₂ es prominente en el estriado (Fuentes, 2007; Flores, 1996).

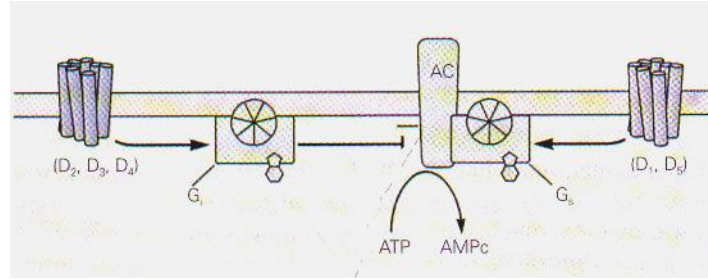
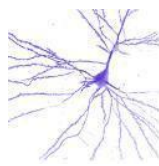


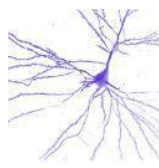
Figura 10. Esquema de unión de los receptores dopaminérgicos con respecto a su familia en unión con su respectiva proteína G; G_s para la familia D1 y G_i para la familia D2, para desencadenar respuesta mediada por segundos mensajeros.

Vías Serotonérgicas (Fig. 11)

- Del rafe mesencefálico al córtex prefrontal.
- Del rafe mesencefálico a los ganglios basales.
- Del rafe mesencefálico al córtex límbico.
- Del rafe mesencefálico al hipotálamo.
- Del rafe mesencefálico a la médula espinal.

Los antecedentes históricos que proponen a la serotonina en la esquizofrenia, surgieron con el efecto alucinógeno de indolaminas como la triptamina, dietilriptamina y 5-metoxi dimetil triptamia, así como del hecho que el diamina el ácido lisérgico (LSD-25), también alucinógeno, fuera un agonista serotonérgico. Esto dio pie a que se desarrollaran compuestos como la ritanserina, un antagonista 5-HT_{2A}, como antipsicótico.

La clozapina es un antagonista de los receptores 5-HT₂, y se ha propuesto que este hecho explica en parte sus propiedades de atípico, ya que resulta ser un antagonista de ambos receptores 5-HT_{2A} y D₂. Los receptores serotonérgicos y en especial el 5-HT_{2A} se han sugerido como relevantes para entender el perfil farmacológico de los antipsicóticos atípicos, ya que estos últimos presentan un índice de interacción entre receptores serotonérgicos y dopaminérgicos, favorable en los receptores serotonérgicos. Un aspecto relevante entre la interacción serotonina y dopamina, es que hay una modificación recíproca entre ambos sistemas. La activación de los



receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} por su agonista DOI, aplicado en la corteza prefrontal medial aumenta el patrón de activación de las neuronas dopaminérgicas del área ventral tegmental, al mismo tiempo que aumenta la liberación de dopamina (DA) en CPFm y AVT.

La administración sistémica de DOI, produce los mismos efectos sobre el aumento de la frecuencia de descarga neuronal en el AVT y sobre la liberación de DA. La aplicación local, en la CPFm, de los antipsicóticos atípicos como clozapina y olanzapina, aumenta la liberación de dopamina en esa región, pero no la modifica en la región del AVT; también se ha encontrado que cuando se estimula esta última, después de la administración de los antipsicóticos mencionados, no hay tampoco incremento de DA en CPFm.

Por otra parte, al rafe dorsal del tallo cerebral confluyen una serie de conexiones aferentes, aunque se tiene relativa poca información de los mecanismos de regulación del mismo. Las aferencias de las neuronas noradrenérgicas que provienen del locus coeruleus, son necesarias para que las células serotonérgicas puedan mantener un tono adecuado de actividad.

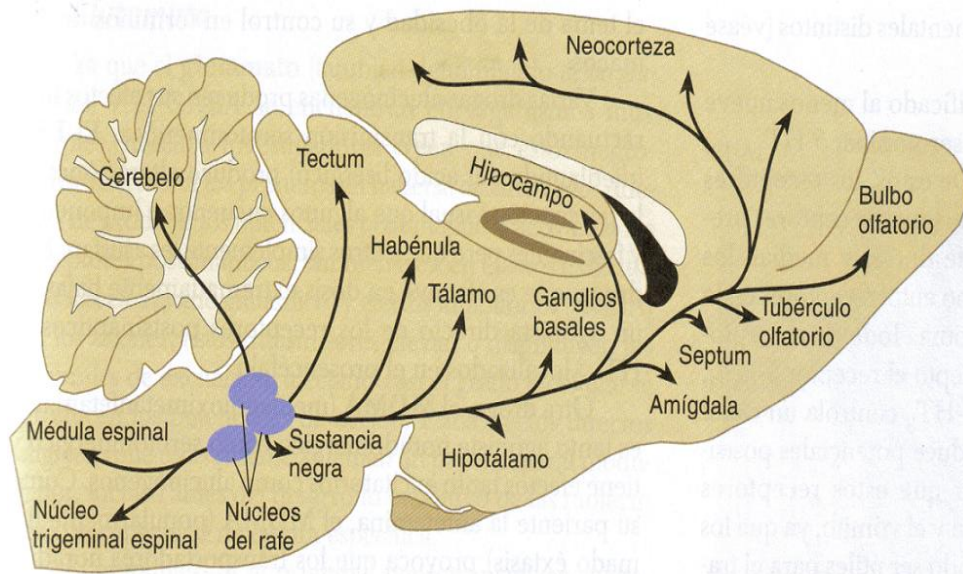
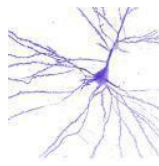


Figura 11. Esquema de la porción sagital media del encéfalo de rata, mostrando las localizaciones de los grupos de neuronas serotonérgicas más importantes y la distribución de sus botones terminales, estructuras implicadas en el modelo de esquizofrenia, dentro de la teoría de la serotonina.

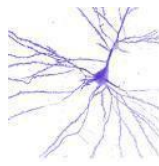


JUSTIFICACIÓN:

La clozapina es un fármaco antipsicótico atípico utilizado en el tratamiento de la esquizofrenia, pues ha mostrado su efectividad en la disminución de los síntomas psicóticos tanto positivos como negativos, sin embargo, su efecto, no se encuentra totalmente comprendido. Por tanto, es necesario realizar estudios tanto a nivel conductual como morfológico de la administración de clozapina, en modelos animales de esquizofrenia como el de la lesión en hipocampo ventral en ratas neonatas.

HIPÓTESIS:

La clozapina al ser administrada en forma subcrónica puede revertir los efectos de la lesión neonatal en hipocampo ventral en cuanto al número de espinas dendríticas y/o arborización de las neuronas espinosas medianas del núcleo acCumbens, y neuronas piramidales de la corteza media prefrontal. Al mismo tiempo que reducir la hiperlocomoción en este modelo.



OBJETIVO GENERAL:

Determinar si el tratamiento subcrónico de clozapina en ratas que fueron lesionadas en hipocampo ventral en etapa neonatal modifica la morfología dendrítica de las células piramidales de corteza media prefrontal (CPFm), las espinosas medianas de núcleo accumbens (NAcc) y las espinosas medianas del núcleo estriado y, su correlación con la actividad motora.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Evaluar la actividad motora de ratas post púberes (60 días de edad) con LnHV, para inferir la alteración en la sobreactividad del sistema dopaminérgico.
2. Evaluar actividad motora a los 81 días de edad después del tratamiento por 21 días con clozapina en ratas con LnHV.
3. Cuantificar la densidad de espinas dendríticas y longitud dendrítica de neuronas piramidales de la capa III en la corteza media prefrontal (CPFm), las espinosas medianas de núcleo accumbens (NAcc) y las espinosas medianas del núcleo estriado en ratas de 81 días de edad, con LnHV después del tratamiento con clozapina, para determinar los cambios en la morfología neuronal provocados por dicho tratamiento.



MATERIAL Y MÉTODOS:

- Se utilizaron ratas macho Sprague Dawley de 60 provistas por el bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, estando bajo el control del ciclo luz – oscuridad 12-12, su alimentación fue a libre demanda.

Este esquema general muestra los pasos realizados en la actividad experimental

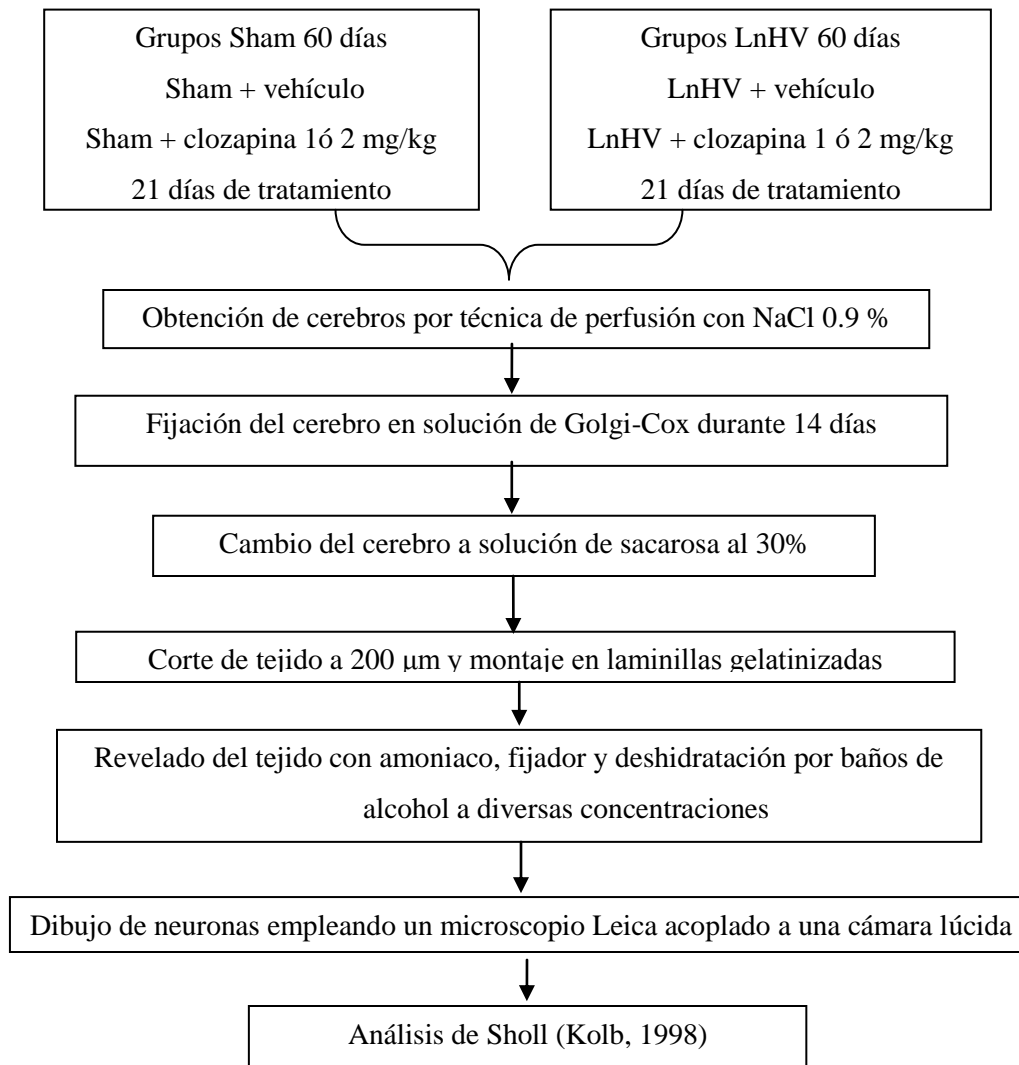
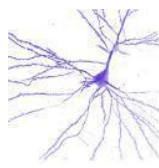


Figura 12. Esquema de trabajo que facilita la comprensión de la metodología del trabajo realizado.



Se dividieron 2 grupos experimentalmente: los Sham (lesión falsa) o controles, los cuales se someten a cirugía estereotáxica y se les administró como vehículo (0.1 M de PBS) y los de lesión neonatal en hipocampo ventral (LnHV) a los que se les administró ácido iboténico (0.3 μ l; 10 μ g/ μ l), de estos dos grupos hicimos una subdivisión de grupos, aquellos que fueron tratados con clozapina con la dosis de 1 mg/kg ó 2mg/kg y los que fueron tratados con vehículo.

Se realizó la cirugía estereotáxica a la edad de 7 días en ambos grupos (Goto y O'Donnell, 2002), En el grupo con lesión falsa (Sham) se administró vehículo, 0.3 μ l (0.1 M PBS [amortiguador de fosfatos]). Y en el grupo de lesión en hipocampo ventral en ratas

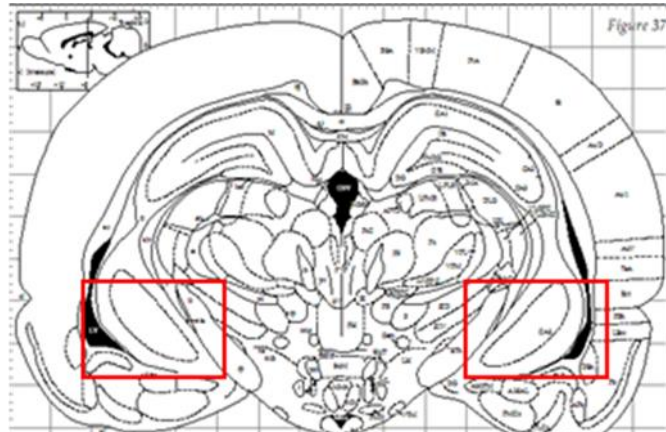


Figura 13. Esquema de un corte coronal donde se muestra el hipocampo ventral en los recuadros, como el lugar donde se realizó la lesión en la etapa neonatal.

neonatas (LnHV), se administró 3 μ g ácido iboténico en un volumen de 0.3 μ l. En las siguientes coordenadas con respecto a bregma y de manera bilateral.

AP – 3.0 mm.

ML \pm 3.5 mm y

DV – 4.9 mm. (Flores, 1996).

Se observó su conducta durante su desarrollo en el bioterio hasta llegar a la edad de 60 días en ambos grupos.

Llegada la edad de 60 días, se procedió a administrar el fármaco antipsicótico atípico “clozapina” (1mg/kg ó 2 mg/kg) vía intraperitoneal durante 21 días o el vehículo.



Figura 14. Dibujo que muestra la manipulación de la rata, para administrar el tratamiento con clozapina con las diferentes dosis con 1 mg/kg ó 2mg/kg de peso durante 21 días, iniciando en el día 60 de edad.



No olvidando el estudio conductual se registró la actividad motora ante ambiente nuevo antes después de la administración de la clozapina o el vehículo.

Para evaluar la actividad motora se introdujeron las ratas en una caja de acrílico oscura de 20x40x30 cm, que contenía 4 pares de fotodiodos y que al moverse la rata, cortaba el haz de luz y dichas interrupciones se contabilizaron en un sistema computarizado.

Para el estudio de morfología neuronal.

Procedimos a anestesiarse a las ratas de acuerdo con la dosis en relación con su peso con pentobarbital sódico.



Figura 15. Dibujo de la técnica de perfusión por inyección intracardiaca, la cual nos permite una eliminación de eritrocitos dentro del encéfalo, favoreciendo la visibilidad del tejido neuronal con la técnica de Golgi-Cox.

Inmediatamente perfundimos intracardialmente con solución salina de NaCl al 0.9 % (100 ml) en un lapso no mayor a 5 minutos para que con la irrigación de la solución salina, deje libre de restos sanguíneos el tejido nervioso y permita su teñido.

Al extraer los cerebros, éstos se conservaron en solución de Golgi (aproximadamente 20 ml por cerebro) durante 14 días, fue importante que los recipientes que contenían a los cerebros fueran de color ámbar para evitar el paso de la luz.

Al final de ese plazo, la solución Golgi-Cox se removió y se cambió por sacarosa al 30%, en dicha solución se mantuvieron los cerebros por 2 días.

Trascurrido este tiempo se realizaron cortes coronales de 200 μm de grosor a nivel de las áreas de interés con un vibrotomo (MA752, Campden Instruments) y se montaron los cortes en laminillas gelatinizadas.

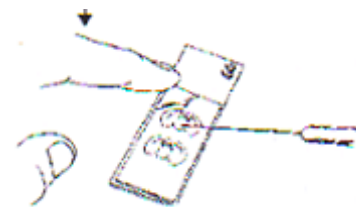
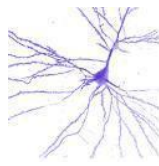


Figura 16. Esquema del montaje del tejido histológico neuronal, realizado en cortes coronales y posteriormente colocados en portaobjetos previamente gelatinizado.



Tinción de Golgi-Cox

- a) 1 min en agua destilada
- b) 30 min en hidróxido de amonio
- c) 1 min en agua destilada
- d) 30 min con fijador kodak para película fotográfica (rápido) diluido 1:2 con agua destilada
- e) 1 min en agua destilada
- f) 1 min en alcohol al 70 %
- g) 1 min en alcohol al 95 %
- h) 5 min en alcohol al 100 %
- i) 5 min en alcohol al 100 %
- j) 15 min con Xileno.

Una vez revelado el tejido se fijó con resina sintética y se dejó secar las laminillas para poder obtener mejor visibilidad del tejido.

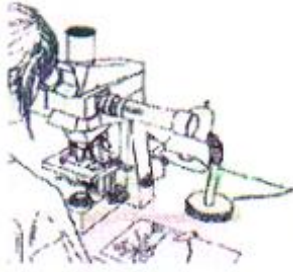


Figura 17. Esquema que muestra cómo se realiza el dibujo de neuronas un microscopio acoplado a una cámara lúcida, cuyo mecanismo parecido al de un periscopio, que nos permite gracias a la posición de los espejos poder dibujar.

Al localizar el área de nuestro interés realizamos el dibujo de neuronas empleando un microscopio Leica acoplado a una cámara lúcida.

De cada rata se dibujaron con ayuda de la cámara lúcida, neuronas piramidales de la capa III de la corteza media prefrontal, las espinosas medianas del NAcc y del estriado (40x), así como las espinas dendríticas distales (100x).



Los criterios de selección de las neuronas fueron (Silva-Gómez, 2003):

- a) En su caso, el soma neuronal debe estar en la capa III de la CPFm
- b) Completa impregnación de la tinción por la neurona
- c) Neuronas intactas (Sholl, 1953).

La superficie dendrítica fue cuantificada mediante dos métodos. Primero, el número total de ramificaciones dendríticas fue contado a partir de los órdenes de bifurcación comenzando desde el cuerpo celular hacia lo más distal o punta de las dendritas (Coleman y Riesen, 1968)

Segundo (Fig. 18), la longitud dendrítica fue estimada con el número de intersecciones de las dendritas en anillos concéntricos que representan 10 μm (Sholl, 1981).

Para calcular la densidad de espinas dendríticas, se tomó el segmento distal trazando dicho dibujo con aproximación de 10 μm de longitud a una ampliación de 1000x y se contó el número de espinas por cada 10 μm (Robinson y Kolb, 1999), se calculó el promedio de espinas dendríticas por cada 10 μm .

Para el análisis estadístico, los resultados fueron procesados con el programa GraphPad Prism 4 y analizados estadísticamente mediante pruebas t de Student y ANOVA de una vía ó 2 vías, una $p < 0.05$ se considero significativa.

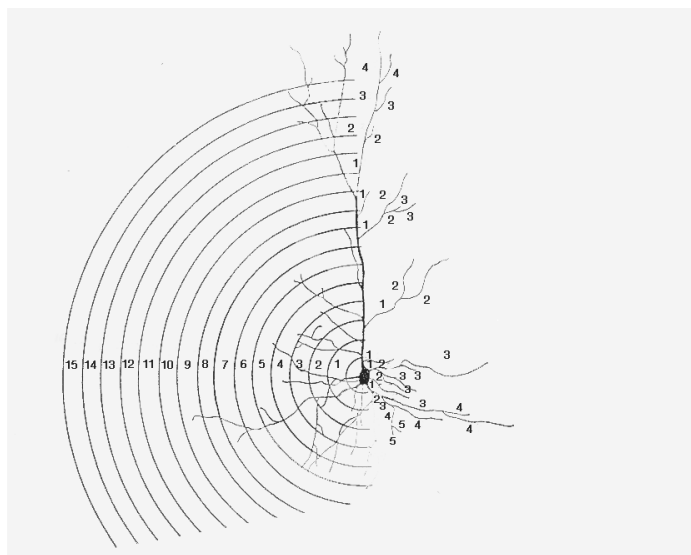
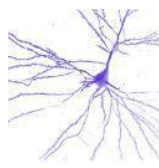


Figura 18. Esquema de cómo se realizó el análisis de Sholl, después de dibujar la neurona, hicimos un marcaje del tipo de orden que existe en la arborización neuronal, posteriormente se superpuso una plantilla de círculos concéntricos permitiéndonos saber la longitud dendrítica de una neurona.



RESULTADOS

Los resultados serán presentados en tres partes, de lesión, de conducta y de morfología. En primer lugar describiré los resultados de lesión.

RESULTADOS DE LESIÓN

En el análisis histológico encontramos una pérdida celular, una gliosis y un ligero deformación de la estructura como mecanismo compensatorio a la lesión excitotóxica en edad neonata (figura 19). Usualmente el ácido iboténico tiende a difundir, afectando las regiones CA3 y CA1 del hipocampo ventral, así como la región del giro dentado, aunque algunas veces el daño puede llegar a afectar a la amígdala.

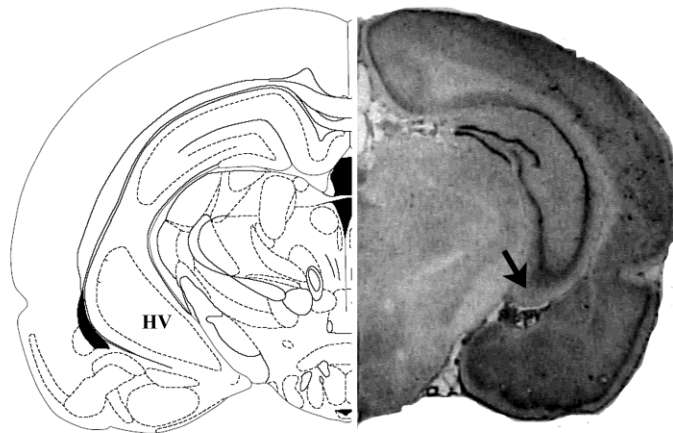


Figura 19. Fotografía de un corte coronal a nivel del hipocampo ventral teñido con la técnica de Nissl mostrando una retracción en el tejido, la gliosis gran pérdida de tejido neuronal en un animal de 60 días de edad con lesión del hipocampo ventral en edad neonata. La flecha indica la región del hipocampo ventral.

RESULTADOS DE ACTIVIDAD MOTORA

Fue necesario medir la actividad motora, debido a que es una forma de expresar alteraciones conductuales implícitas en el modelo animal de esquizofrenia, para hacer válido nuestro modelo los cuales se obtuvieron al medir la locomoción con la ayuda de un equipo de registro descrito previamente en material y métodos; muestro en primer lugar las gráficas de los grupos con lesión y falsa lesión (figura 20) para evaluar el efecto de la lesión dicha medición se realizó a los 60 días de edad, posteriormente en la figura 21, muestro el efecto de la administración de clozapina



con diferentes dosis: (0 mg/kg), 1 mg/kg ó 2 mg/kg. El tratamiento con clozapina redujo la actividad motora en el grupo LnVH con respecto al control; en cambio en el grupo SHAM, no se encontró diferencias entre las distintas dosis de clozapina con respecto a su control (fig. 21). Se observa, como a los 60 días, que en el grupo control de LnHV hay una hiperactividad con respecto al control del grupo SHAM.

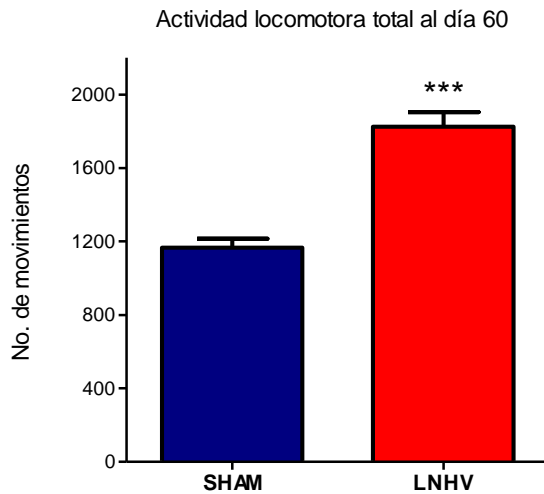


Figura 20. Registro de la actividad motora en animales a los cuales se les realizó lesión y lesión falsa (SHAM). Los datos describen la actividad motriz registrado en el equipo de actividad motora, la cual cuantifica el número de veces que un animal se desplaza e interrumpe los haz luz, que nos permite medir desplazamiento, los valores indican que los animales lesionados en etapa neonatal son más hiperactivos con respecto a sus controles o SHAM, como lo mostró la prueba de *t. Student* con una $p < 0.05$. (***), los datos son expresados con sus barras de error estándar y la n mínima de 20 para cada grupo pues aún no se realizaba la administración del tratamiento con distintas dosis de clozapina o vehículo.

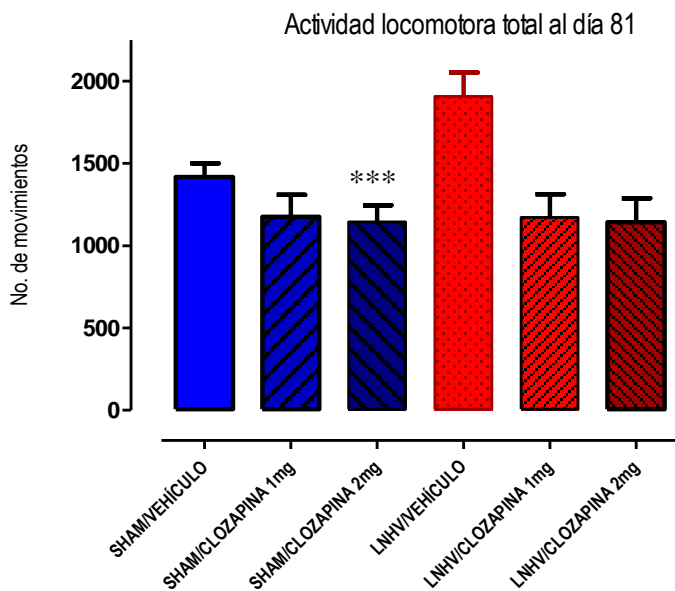
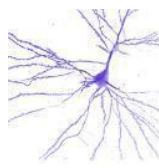


Figura 21. Gráfica del registro de actividad locomotora realizada al día 81, una vez terminado el tratamiento con clozapina a diversas dosis. La actividad motora de los animales del grupo LnHV al ser tratados con clozapina, sin importar la dosis de 1 ó 2 mg/kg, disminuye significativamente con respecto a su control, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; ***, los resultados expresan el error estándar de cada barra, cuya n para cada grupo fue: vehículos 9 c/u y clozapina 11 c/u tanto lesión como sham.



RESULTADOS DE MORFOLOGÍA

Una vez obtenidos los resultados en conducta, sacrificamos a los animales y obtuvimos los encéfalos para colocarlos en solución Golgi-Cox, realizándose los cortes coronales, procediendo posteriormente con el revelado y montado, para el dibujo y análisis al microscopio de las neuronas, procedimientos descritos previamente y detalladamente en el apartado de material y métodos. En primer lugar, presento fotomicrografías de neuronas representativas de neuronas piramidales de CPFm de la capa III, espinosas medianas del núcleo accumbens y espinosas medianas del caudado-putamen (estriado) teñidas con tinción Golgi-Cox (figura 22).

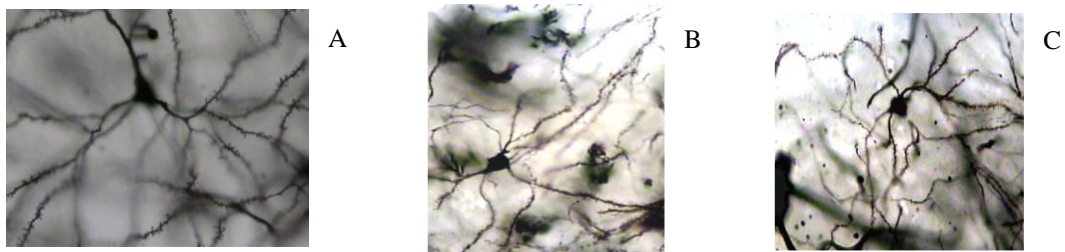


Figura 22. Fotomicrografías de neuronas procesadas con la técnica de Golgi-Cox A) neurona piramidal de corteza prefrontal media. B) neurona espinosa mediana del núcleo accumbens. C) neurona espinosa mediana del caudado-putamen.

El método para evaluar la morfología fue descrito previamente en el apartado de material y métodos. Los resultados que obtuvimos en dicho estudio, los presento de la siguiente forma por áreas, primero los de CPFm con su respectiva longitud total de cada grupo (figura 23), el análisis de Sholl de cada grupo tanto sham y lesión (figuras 24 y 25), y finalizando con la densidad de espinas de cada grupo (figura 26).



RESULTADOS EN CORTEZA PREFRONTAL MEDIA CAPA III

Longitud dendrítica total de neuronas piramidales de CPFm

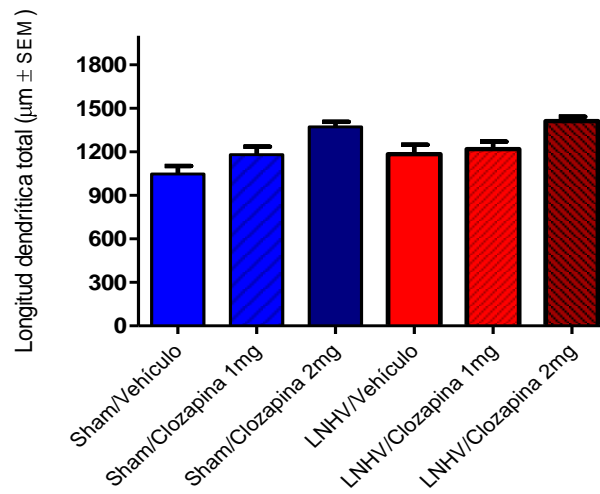
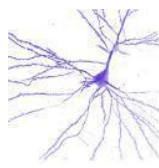


Figura 23 Medición de la longitud dendrítica total de los 6 grupos de animales, los sham/vehículo, sham/clozapina 1 mg/kg, sham/clozapina 2 mg/kg, los de LnHV/vehículo, LnHV/clozapina 1 mg/kg y LnHV/clozapina 2 mg/kg. La gráfica de barras, muestra los resultados obtenidos de la suma acumulada de la longitud dendrítica, obtenidos al realizar el análisis de Sholl, las barras indican que el grupo sham/vehículo, tiene una menor longitud dendrítica total con respecto a los tratados con clozapina (lesionados y SHAM), como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; ***, los resultados expresan la media \pm error estándar de cada barra, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

Como podemos observar, en la figura 23, muestro una gráfica de barras que representa, la longitud dendrítica total de cada grupo, con una $n=9$ cada grupo vehículo y $n=11$ para cada grupo con administración de clozapina; se realizó un análisis de variancia de una vía, encontrándose una diferencia significativa entre los grupos, $P < 0.05$ *; Indicando que en los grupos SHAM con clozapina aumentan su longitud dendrítica total con respecto al sham/vehículo. Además, el el grupo LnHV/clozapina 2 mg, el aumento en la longitud dendrítica total también es significativo con respecto a su control (LnVH/vehículo).



Arborización de neuronas piramidales de la CPFm
capa III

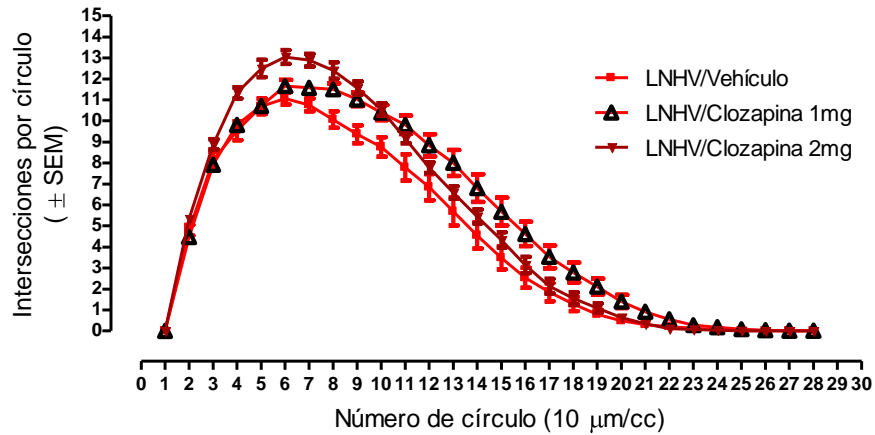


Figura 24. Cuantificación de la longitud dendrítica, realizado con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos en el análisis de Sholl al contar el número de intersecciones en cada círculo, realizado en las neuronas piramidales de la CPFm en la capa III, la gráfica indica que se parecen mucho los datos obtenidos entre los 3 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *de ANOVA de dos vías* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

En la figura 24 y 25, las gráficas describen los datos obtenidos del análisis de Sholl de las intersecciones por círculo de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal media, de la capa III, empleamos un análisis de variancia de dos vía y encontramos que no existe diferencia significativa entre los seis grupos, aunque analizamos por separado los grupos sham y de lesión.

Arborización de neuronas piramidales de la CPFm
capa III

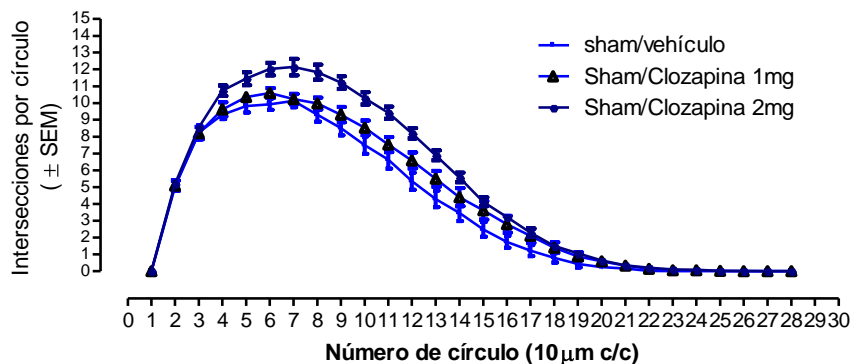


Figura 25. Cuantificación de dendritas realizadas con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos en el análisis de Sholl al contar el número de intersecciones en cada círculo, realizado en las neuronas piramidales de la CPFm en la capa III, la gráfica indica que se parecen



mucho los datos obtenidos entre los 3 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *de ANOVA de dos vías* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

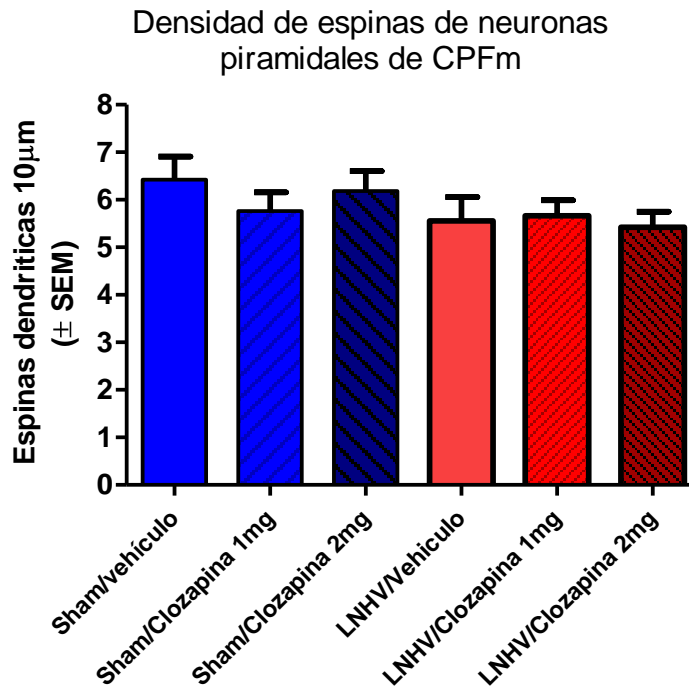


Figura 26. Cuantificación de densidad de espinas dendríticas. La gráfica de barras muestra los resultados obtenidos en la cuantificación de espinas dendríticas obtenidas de un segmento de dendrita distal de las 90 110 neuronas analizadas para cada grupo experimental, los resultados indican que se parecen los datos obtenidos entre los 6 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *ANOVA de una vía* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm el error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90

En cuanto a la densidad de espinas dendríticas, realizamos un análisis de variancia de una vía, una $P > 0.05$, nos indica que no hubo diferencias en esta variable, por lo que podría sugerir, que en otra área se pudiese encontrar un cambio a nivel de densidad espinas.

RESULTADOS EN NÚCLEO ACCUMBENS

La segunda área para presentar resultados, es el núcleo accumbens, analizando sus neuronas espinosas medianas, el método utilizado para evaluar la morfología, es el mismo que utilizamos para la región de la CPFm, descrito previamente en el apartado de material y métodos. La manera en que se presentan los dibujos, es la siguiente: longitud total de cada grupo (figura 27), el análisis de Sholl de cada grupo tanto sham y lesión (figuras 28 y 29), y finalizando con la densidad de espinas de cada grupo



(figura 30 y 31), pues en éste grupo consideramos las dendritas tanto distales como las proximales.

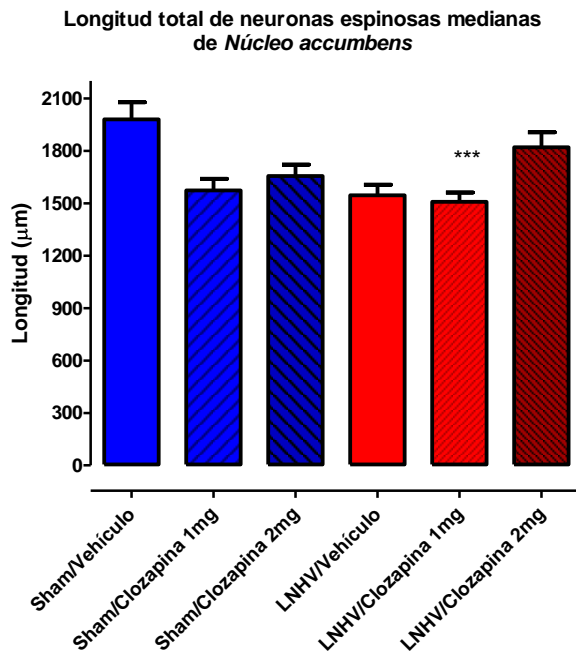
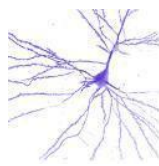


Figura 27. Medición de la longitud dendrítica total de los 6 grupos de animales, los sham/vehículo, sham/clozapina 1 mg/kg, sham/clozapina 2 mg/kg, los de LNHV/vehículo, LNHV/clozapina 1 mg/kg, LNHV/clozapina 2 mg/kg. La gráfica de barras, muestra los resultados obtenidos de la suma acumulada de la longitud dendrítica, obtenidos al realizar el análisis de Sholl, las barras indican que el grupo LNHV/clozapina 2 mg, tiene una mayor longitud dendrítica total con respecto a todos los grupos, con excepción del Sham/vehículo, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; ***, los resultados expresan la media \pm el error estándar de cada barra, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

En la longitud total (Fig 27) no se encuentra un patrón establecido acerca del comportamiento o tendencia de la clozapina, sin embargo la gráfica de barras, muestra los resultados obtenidos de la suma acumulada de la longitud dendrítica, obtenidos al realizar el análisis de Sholl, en los sham la clozapina redujo la longitud dendrítica; en cambio, las barras indican que el grupo LNHV/clozapina 2 mg, tiene una mayor longitud dendrítica total con respecto a su control, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; ***.

Podemos observar que existe un decremento en la arborización con el análisis de Sholl en el núcleo accumbens del grupo sham, al administrar clozapina, interesantemente observamos que este efecto es contrario en los grupos con lesión con la dosis mayor de clozapina (Figs. 28 y 29).



Arborización de neuronas espinosas medianas de *núcleo Accumbens*

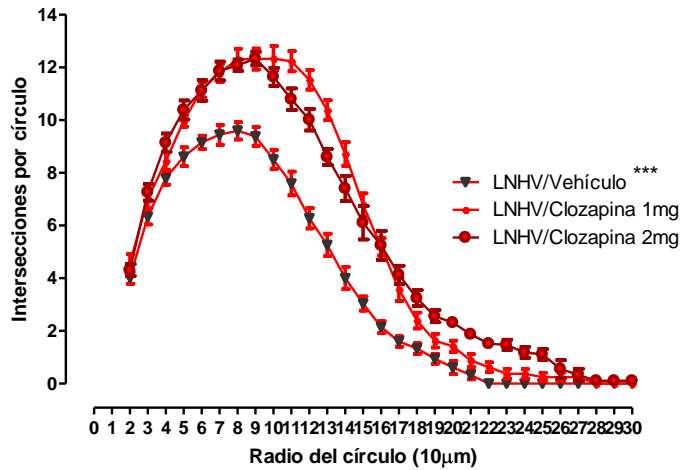


Figura 28. Cuantificación del árbol dendrítico realizado con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos al contar el número de intersecciones en cada círculo, realizado en las neuronas espinosas medianas, la gráfica indica que los datos obtenidos entre los 3 grupos de LNHV difieren significativamente, donde la clozapina incrementa el grado de arborización, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de dos vías* con una $P < 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90-110.

Arborización de neuronas espinosas medianas de *núcleo Accumbens*

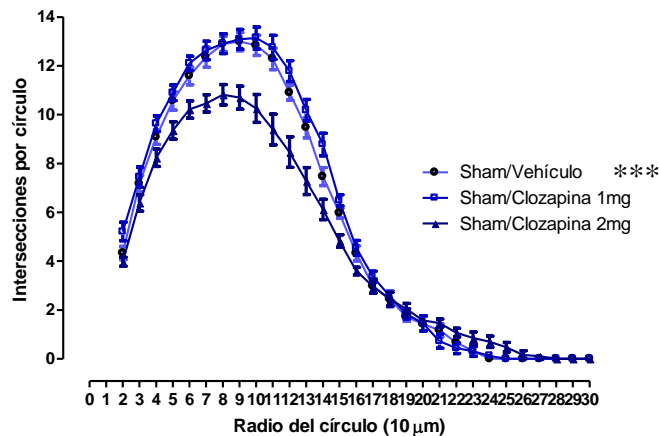
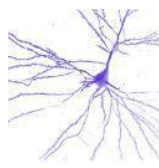


Figura 29. Cuantificación del árbol dendrítico realizado con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos al contar el número de intersecciones en cada círculo, realizado en las neuronas espinosas medianas, la gráfica indica que los datos obtenidos entre los 3 grupos SHAM difieren significativamente, disminuyendo la arborización al aumentar la dosis de clozapina, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de dos vías* con una $P < 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90-110.



Densidad de espinas proximales de neuronas espinosas medianas de *Núcleo accumbens*

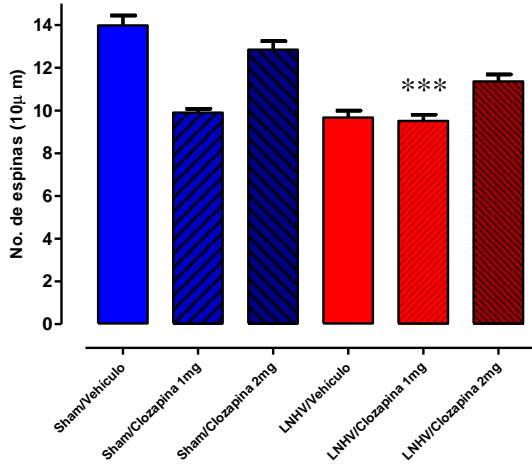


Figura 30. Cuantificación de densidad de espinas dendríticas. La gráfica de barras muestra los resultados obtenidos en la cuantificación de espinas dendríticas obtenidas de un segmento de dendrita proximal de las 90- 110 neuronas analizadas para cada grupo experimental, los resultados indican que difieren significativamente los datos obtenidos entre los 6 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90

Densidad de espinas distales de neuronas espinosas medianas de *Núcleo accumbens*

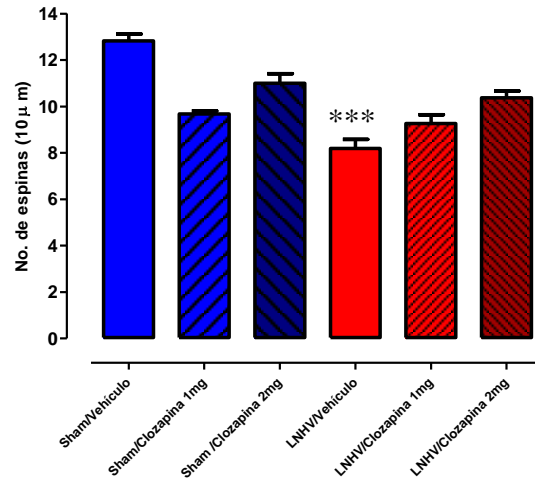


Figura 31. Cuantificación de densidad de espinas dendríticas. La gráfica de barras muestra los resultados obtenidos en la cuantificación de espinas dendríticas obtenidas de un segmento de dendrita distal de las 90- 110 neuronas analizadas para cada grupo experimental, los resultados indican que difieren significativamente los datos obtenidos entre los 6 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90

Para las espinas dendríticas, los resultados fueron semejantes para las porciones proximales o distales. Encontramos diferencia significativa como lo muestra la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; los resultados mostraron una reducción de la densidad provocada por la lesión, la cual fue revertida parcialmente por el tratamiento con clozapina (Figs. 30 y 31). Interesantemente, la clozapina a la dosis de 1 mg/kg redujo la densidad de espinas en el grupo sham con respecto a su control.



RESULTADOS EN CAUDADO PUTAMEN

La tercer área para presentar resultados, es el núcleo caudado-putamen, analizamos sus neuronas espinosas medianas, el método utilizado descrito en el apartado de material y métodos. La manera en que se presentan los dibujos, es la siguiente: longitud total de cada grupo (figura 32), el análisis de Sholl de cada grupo tanto sham y lesión (figuras 33 y 34), y finalizando con la densidad de espinas de cada grupo (figura 35)

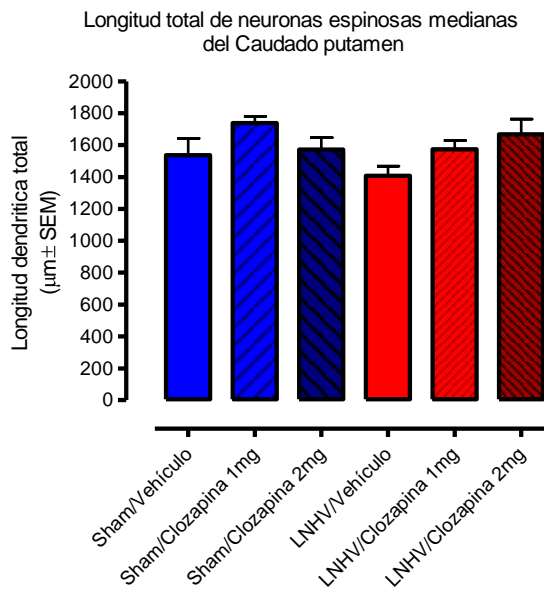


Figura 32. Medición de la longitud dendrítica total del caudado-putamen en los 6 grupos de animales, los sham/vehículo, sham/clozapina 1 mg/kg, sham/clozapina 2 mg/kg, los de LnHV/vehículo, LnHV/clozapina 1 mg/kg, LnHV/clozapina 2 mg/kg. La gráfica de barras, muestra los resultados obtenidos de la suma acumulada de la longitud dendrítica, obtenidos al realizar el análisis de Sholl, las barras indican que no difieren significativamente los grupos entre si, como lo mostró la prueba de *ANOVA de una vía* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

Como podemos observar, en la figura 32 muestro una gráfica de barras que representa la medición de la longitud dendrítica total de los 6 grupos de animales. La gráfica de barras muestra los resultados obtenidos al realizar el análisis de Sholl, las barras indican que no difieren significativamente los grupos entre sí, como lo mostró la prueba de *ANOVA de una vía* con una $P > 0.05$, En forma similar tampoco se encontraron diferencias significativas en el grado de arborización (Figs. 33 y 34).

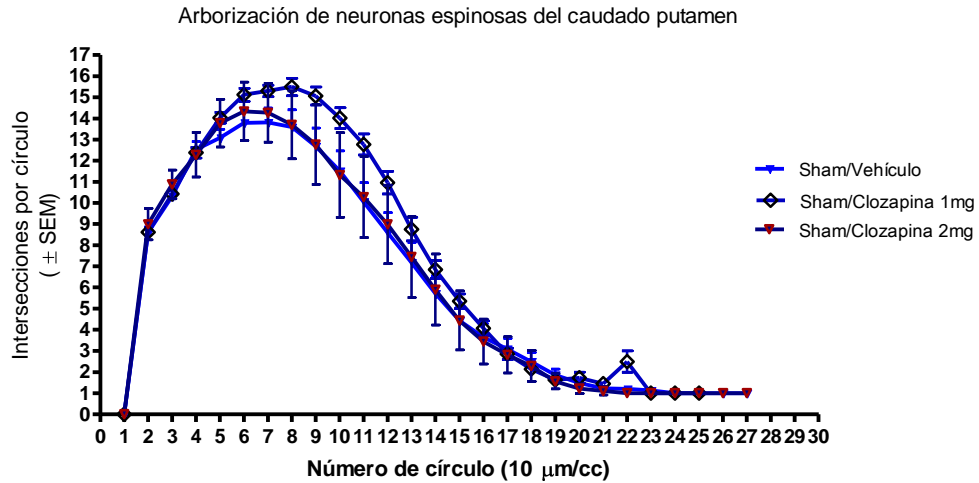
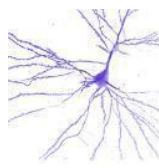


Figura 33. Cuantificación del grado de arborización realizado con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos al contar el número de intersecciones en cada círculo, realizado en las neuronas espinosas medianas del caudado-putamen de los grupos sham, la gráfica indica que se parecen mucho los datos obtenidos entre los 3 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *ANOVA de dos vías* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.

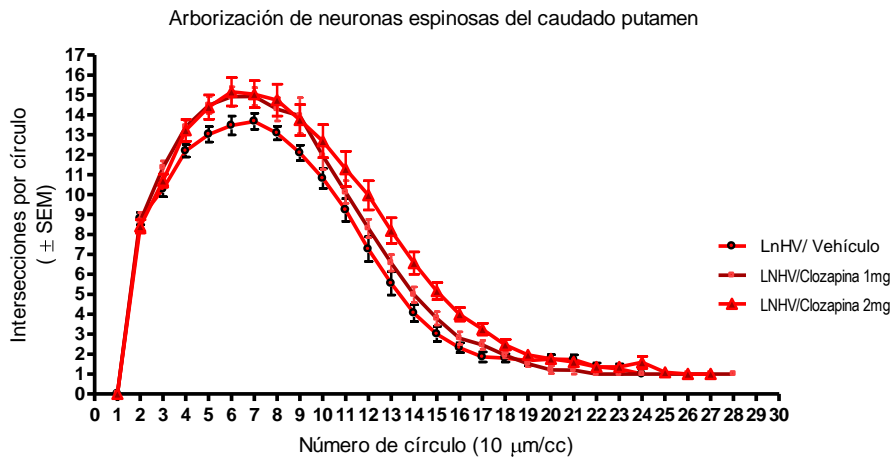


Figura 34. Cuantificación del árbol dendrítico realizado con el análisis de Sholl. La gráfica muestra los resultados obtenidos al contar el número de intersecciones en cada círculo en los grupos con LnHV, realizado en las neuronas espinosas medianas del caudado-putamen, la gráfica indica que se parecen mucho los datos obtenidos entre los 3 grupos experimentales, como lo mostró la prueba *ANOVA de una vía* con una $P > 0.05$; los resultados expresan la media \pm el error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90.



Densidad de espinas de neuronas
espinosas medianas del Caudado putamen

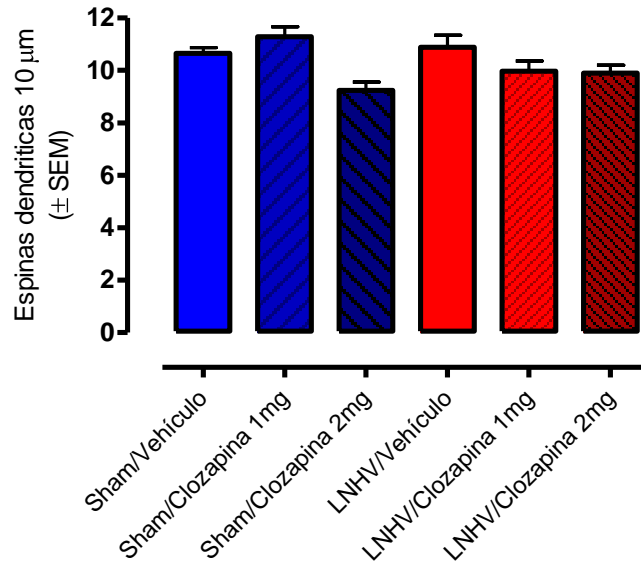
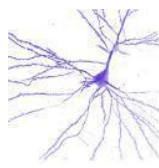


Figura 35. Cuantificación de densidad de espinas dendríticas en el caudado-putamen. La gráfica de barras muestra que difieren significativamente los datos obtenidos del grupo sham/clozapina 2 mg vs el resto de los grupos, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$; los resultados expresan la media \pm el error estándar, cuya n mínima de neuronas para cada grupo fue de 90

Obtuvimos los resultados de la densidad de espinas dendríticas, donde el único grupo afectado fue el de sham/clozapina 2 mg, mostrando una reducción en la densidad de espinas con respecto a los demás grupos que no difieren entre sí, como lo mostró la prueba *Newman Keuls en ANOVA de una vía* con una $P < 0.05$.



DISCUSIÓN

El propósito de este trabajo fue determinar si el tratamiento subcrónico (administración durante 21 días) de clozapina en ratas que fueron lesionadas en hipocampo ventral en etapa neonatal corrige los cambios en la morfología dendrítica a nivel de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal, cambios en las neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens y/o en las espinosas medianas del caudado-putamen. Mientras que la actividad motora, parámetro perfectamente bien estudiado y que ha demostrado que los animales adecuadamente lesionados en el hipocampo ventral a edad neonatal desarrollan un incremento de la misma después de la pubertad (Flores y cols., 1996; 2005). Nosotros usamos este parámetro como un índice para asegurar que los animales están bien lesionados, además de probar si el tratamiento con clozapina podría revertir esa hiperactividad.

El modelo animal de LnHV ha sido utilizado para probar la hipótesis de una errónea o inadecuada interconexión entre hipocampo y corteza prefrontal durante el neurodesarrollo, que pueda también alterar las conexiones con el estriado y/o el NAcc, lo que conduciría a cambios conductuales vinculados con la transmisión dopaminérgica y en consecuencia relacionados con la esquizofrenia. El incremento del tono dopaminérgico a nivel del estriado yNAcc sugerido en la esquizofrenia y en este modelo animal (Alquicer y cols., 2004), se ha relacionado con la presencia de los síntomas positivos en la esquizofrenia (alucinaciones, ideas delirantes y conducta desorganizada) y en este modelo animal (hiperactividad ante estímulos novedosos, ante estimulantes como la anfetamina y apomorfina), mientras que la disminución de este tono a nivel de la corteza prefrontal se ha relacionado con los síntomas negativos en la esquizofrenia (baja interacción social, desaseo, aplanamiento afectivo) y en este modelo (disminución en el la limpieza y en la interacción social) (Alquicer y cols., 2004, 2008). De acuerdo con nuestros resultados, primero se confirmó el efecto esperado de hiperactividad post-puberal (60 días de edad) en ratas con LnHV; segundo, dicho efecto permaneció después de 21 días de tratamiento con vehículo al comparar los grupos LnHV y SHAM. Cuando analizamos el efecto de la clozapina, ésta no provocó cambios en el grupo SHAM, pero sí redujo la hiperactividad



provocada por la lesión neonatal del hipocampo ventral. Lo anterior confirma el valor predictivo del modelo de LnHV, donde el uso de este antipsicótico atípico también redujo la hiperactividad motora (signo positivo) provocada por la exposición al ambiente nuevo.

En la siguiente parte, nosotros quisimos averiguar si los cambios morfológicos provocados por la LnHV, en las áreas neurales estudiadas, también pudieran ser corregidos con el tratamiento con clozapina y así tratar de correlacionarlos con los resultados en conducta.

Morfológicamente, la LnHV no causó en nuestro estudio, cambios en la arborización o en la densidad de espinas dendríticas en la CPFm; sin embargo, el tratamiento con clozapina sí provocó un aumento de la longitud dendrítica total de ambos grupos (SHAM y LnHV). En cambio, en el NAcc, la LnHV redujo todas las variables neuronales evaluadas (longitud dendrítica y densidad de espinas). Como en el experimento de conducta, el tratamiento con clozapina (2 mg/kg) en las ratas con LnHV, revirtió la disminución de la longitud dendrítica total y en la densidad de espinas dendríticas. Aunque dicho efecto no logró llevar a niveles comparables al del control (Sham/vehículo). En el estriado (caudado-putamen), ni la LnHV ni el tratamiento con clozapina, provocaron cambios en la morfología neuronal analizada.

En resumen, al parecer, la LnHV provoca alteraciones estructurales en el NAcc que se manifiestan conductualmente como una hiperactividad motora, y ambas son corregidas por el tratamiento súbcronico con la clozapina.

Hay mucha evidencia demostrando que la corteza prefrontal está implicada en la patofisiología de la esquizofrenia, ya que esta ejerce un importante control regulador en el sistema dopaminérgico subcortical, principalmente en su sobreactivación, lo cual puede englobar los síntomas psicóticos de la enfermedad. (Marcotte y cols., 2001; Juárez y cols. 2003).

La CPF y el hipocampo son regiones que se han reportado disfuncionales en pacientes con esquizofrenia. Se sabe que el hipocampo envía proyecciones a la corteza prefrontal, y ésta a su vez envía proyecciones al área ventral tegmental, fuente de proyecciones dopaminérgicas mesolímbicocorticales. Interesantemente la capa III de la corteza prefrontal recibe proyecciones hipocámpales, y ambas



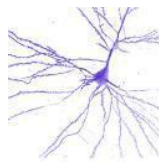
estructuras controlan la actividad de las neuronas del núcleo accumbens vía glutamato (Marcotte y cols., 2001).

Las vías mesolimbicocorticales son el punto común para muchos fármacos y drogas de abuso, y desempeñan un papel importante en los procesos de recompensa, y la DA al ser un intermediario traduce una motivación en una acción; aunque no sólo la DA está involucrada en este proceso, también se encuentra involucrada la SE, considerándole como un probable neuromodulador de las vías dopaminérgicas mesolimbicocorticales. Se ha demostrado la existencia de terminales serotoninérgicas en el AVT y éstas forman sinapsis con las neuronas dopaminérgicas de proyección; como de aferencias serotoninérgicas que llegan hasta el núcleo accumbens y corteza frontal, regulando así las terminales dopaminérgicas.

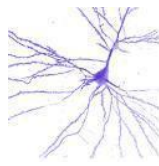
Los receptores $5HT_{1A}$ quienes juegan un papel en el desencadenamiento de conductas reforzadoras modulando la actividad dopaminérgica en el AVT y núcleo accumbens y también se ha encontrado un aumento de DA en la corteza prefrontal. Los receptores $5HT_2$ tienen un papel inhibitorio sobre las neuronas dopaminérgicas en el AVT.

La clozapina fue el primer antipsicótico atípico al presentar este antagonismo sobre los receptores D_2 y una afinidad por los receptores D_4 , favoreciendo así la mejoría en los síntomas negativos y positivos, así como la disminución de los efectos extrapiramidales. De tal manera que la clozapina antagonista serotoninérgico, causaría una disminución de la transmisión dopaminérgica a todos los niveles en el SNC, lo cual podría traer como consecuencia una recuperación de los cambios descritos en observados en el modelo animal de nuestro estudio.

Sabemos que existe una reorganización de la corteza prefrontal en los animales lesionados y se ha observado que hay pérdida neuronal en la CPF, disminución de la densidad de espinas dendríticas y longitud dendrítica, con un aumento en el disparo neuronal por parte de las neuronas piramidales corticales como respuesta a la estimulación mesocortical, así como una disminución del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), y una disminución del gen temprano del factor inductor B- de crecimiento nervioso (HGFI-B) (Marcotte y cols. 2001).



Sin embargo es poco lo que se sabe que pudiera hacer la clozapina, una posibilidad es que el bloqueo de la transmisión dopaminérgica, module indirectamente a la transmisión glutamatérgica y esta modifique los factores tróficos, lo que permita la estabilidad de la longitud dendríticas en este modelo animal. Nosotros sólo observamos un incremento de longitud dendrítica en esta zona por efecto del tratamiento con la clozapina.



CONCLUSIONES

La LnHV provoca una hiperactividad motora a los 60 y 81 días de edad en los animales.

La administración subcrónica de clozapina causa una disminución en la hiperactividad motora provocada por la LnHV en ratas pos-púberes.

La estructura de las neuronas espinosas medianas del NAcc es alterada por la LnHV, sin embargo, dicha alteración estructural puede ser contrarrestada por la administración subcrónica de clozapina.

Se encuentra, en animales con LnHV, una correlación inversa entre la alteración morfológica del NAcc y la conducta motora anormal, la cual puede ser normalizada tras el tratamiento subcrónico con clozapina.



BIBLIOGRAFIA

Alonso-Vanegas MA. (1995) Cirugía estereotáxica. *Anales del Hospital de Jesús*;1:2 46-52.

Anderson B.J, Eckburg P.B., Relucio K.I., (2002) Alterations in the thickness of motor cortical subregions after motor-skill learning and exercise, *Learn. Mem.* 9 1–9.

Bertorelli R, Consolo S, (1990) D1 and D2 dopaminergic regulation of acetylcholine release from striata of freely moving rats, *J. Neuro-* 2145–2148.

Brake W. G., Sullivan R.M., Flores G., Srivastava L.K., Gratton A. (1999) Neonatal ventral hippocampal lesions attenuate the nucleus accumbens dopamine response to stress: an electrochemical study in the adult rat. *Brain Res* 831.

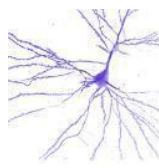
Buell SJ (1982) Golgi-Cox and rapid golgi methods as applied to autopsied human brain tissue: widely disparate results. *J Neuropathol Exp Neurol.* 41(5):500-7.

Buller JR and Rossi ML (1993) Immunocytochemistry on paraffin wax Golgi-Cox impregnated central nervous tissue. *Funct Neurol.* 8(2):135-51.

Carlson N R. (2006) Esquizofrenia y trastornos afectivos *En Fisiología de la conducta* (571 -604pp), España. Editorial Pearson Addison Wesley

Castano P, Gioia M, Barajon I, Rumio C and Miani A (1995) A comparison between rapid Golgi and Golgi-Cox impregnation methods for 3-D reconstruction of neurons at the confocal scanning laser microscope. *Ital J Anat Embryol.* 100 Suppl 1:613-22.

Cox W. (1891); Impragnation des centralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. *Arch Mikr Anat* 37:16–21.



Fiala, J.C., Spacek, J. y Harris, K. (2002). Dendritic spine pathology: Cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res. Rev.* 39, 29-54.

Flores G, Barveau D, Quirion R (1996) Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *J Neurosci* 16:2020-2026

Flores G., Silva-Gómez A.B., Alquicer G., Bermúdez-Vázquez M. y Rivera-Saldivar G. (2001) La desconexión neonatal de la vía cortical prefrontal – temporo-limbica: sus implicaciones para la esquizofrenia. *Temas selectos de neurociencias II*. Ed. Javier Velázquez Moctezuma. UAM.

Flores, G., Alquicer, G., Silva-Gómez, A., Rivera, G., Quirino, R., y Lalit K. Srivastava. (2005). Alterations in Dendritic Morphology of Prefrontal Cortical and Nucleus Accumbens Neurons in Adult Rats after Neonatal Excitotoxic Lesions of the Ventral Hippocampus. *Neurosc.* 133, 463-470.

Freeman W, Watts JW. (1942) *Psychosurgery*. Springfield, IL, Charles C Thomas

Gibb R and Kolb B (1998) A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *J Neurosci Methods.* 79(1):1-4.

Gildenberg P, Tasker R. (1998) *Textbook of stereotactic and functional Neurosurgery*, McGraw-Hill, E.U.A.

Goldberg TE, David A, Gold JM. Neurocognitive deficits in schizophrenia en *Schizophrenia*, 2^a ed. Hirsch SR,

Goodman & Gilman. (1996) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 439-442.



Grandin T, Demotte OD, Greenough WT, Curtis SE (1988) Perfusion method for preparing pig brain cortex for Golgi-Cox impregnation. *Stain Technol.* 63(3):177-81.

Heilburn P. *Stereotactic Neurosurgery*, vol. 2, Williams & Wilkins, E.U.A.

Joseph J. (2006) La esquizofrenia y la herencia En: Read, John . *Modelos de locura. Aproximaciones psicológicas, sociales y biológicas de la esquizofrenia*, (79-102pp) España, editorial Herder

Kandel E (2001) Trastornos del pensamiento y la voluntad: Esquizofrenia En: *Principios de Neurociencia* (1188-1208pp) Madrid España. Editorial Mc Graw-Hill. Interamericana

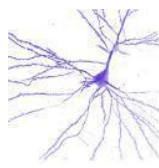
Kolb B ., Forgie M., Gibb R., Gorny G., Rowntree S, (1998) Age, experience and the changing brain, *Neurosci.* 143–159.

Kempermann G., Kuhn H.G., Gage F.H., (1998) Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus, *J. Neurosci.* 18

Laitinen LV, Livingston KE. (1973.) *Surgical Approaches in Psychiatry*, MTP. Great Britain.

Lewis D .A., Anderson S.A., (1995) The functional architecture of the prefrontal cortex and schizophrenia, *Psychol. Med.* 25 . 887–894.

Lipska B .K., Jaskiw G.E., Weinberger D.R., (1993) Postpubertal emergence hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of [schizophrenia, *Neuropsychopharmacology* 967–75.



Lipska B. K. (2004) Using animal models to test a neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, *J Psychiatry Neurosci*; 29 (4) : 282 – 6.

Llorca P-M., Chereau I., Bayle F-J. y Lancon C. (2002) Discinesias tardías y antipsicóticos: una revisión *Eur Psychiatry Ed. Esp.*; 9: 359-369.

Marcotte E R, Pearson D M, Srivastava L K (2001) Animal models of schizophrenia: a critical review, *J Psychiatry Neurosci*: 26 (5) 395 – 410.

Paxinos G., Watson C., (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 4th Edition, Academic Press, New York,.

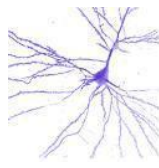
Pinel J. (2006) *Biopsicología de los trastornos psiquiátricos* En *Biopsicología* (501 – 507pp) España, Editorial Pearson Addison Wesley

Pugh BC and Rossi ML (1993) A paraffin wax technique of Golgi-Cox impregnated CNS that permits the joint application of other histological and immunocytochemical techniques. *J Neural Transm Suppl.* 39:97-105.

Read, John(2006) *La invención de la esquizofrenia* En: Read, John . *Modelos de locura. Aproximaciones psicológicas, sociales y biológicas de la esquizofrenia*, (25-40pp) España, editorial Herder

Ross C, Read J, (2006) *los fármacos antipsicóticos : mitos y realidades* En: Read, John . *Modelos de locura. Aproximaciones psicológicas, sociales y biológicas de la esquizofrenia*, (123-140pp) España, editorial Herder

Salín-Pascual RJ, (2005) *Neurobioquímica y farmacología de los antipsicóticos atípicos*.*Rev Mex Neuroci* 6(6): 500-507.



Sánchez-Huerta L., Ayala G., Marroquín J., Calderón R., Silva-Gómez A.B., Khotiaintsev K. S., Degtiareva L., Khotiaintsev S. N., Flores G. (2002) Neonatal prefrontal cortex lesion using CO2 laser technique. Brain Research Protocols ID 69-74.

Weinberger D., Egan M. F., Bertolino A., Callicott J H, Mattay V. S., Lipska K., Berman K. F, Goldberg T. E. (2001) Prefrontal Neurons and the genetics of schizophrenia, Biol Psychiatry ;50: 825- 844.

Weinberger D.R., Lipska B.K., (1995) Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common Schizophr. Res. 16 - 87–110.