

Quetiapina: recenti sviluppi della ricerca preclinica

Marco Orsetti¹, Fabio Di Brisco¹, Massimo Mauro¹, Dario Dallorto², Piera Ghi²

Abstract

Quetiapine (QTP) is an atypical antipsychotic labelled for the treatment of patients with schizophrenia, bipolar mania and bipolar depression. Nevertheless, QTP has been tried across multiple diagnosis categories and seems to be used, among other atypical antipsychotics, in clinical practice for an expanding range of disorders such as major depression, substance abuse disorders, anxiety disorders, and borderline personality disorders. The present review focuses on papers which investigated the molecular mechanism(s) of QTP antidepressant effect. In particular, preclinical studies performed by coupling the chronic mild stress, an animal model of human depression with Affymetrix microarray technology, revealed that chronic QTP administration prevented the stress-induced up- or down-regulation of 42 genes involved in the central nervous system development or having a crucial role for viability of neural cells, like regulation of signal transduction, inorganic ion transport, membrane organisation, and neurite morphogenesis. Among these, Prgs2, Hes5, Plcb1, Senp2, Gad1, and Marcks are presumably the effectors of the QTP clinical efficacy.

Keywords: quetiapine, depression, gene regulation, chronic mild stress

Quetiapine: recent developments in preclinical research
CMI 2010; 4(1): 25-38

¹ Dipartimento di Scienze Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche e Farmacologiche (DiSCAFF), Università degli Studi del Piemonte Orientale "A. Avogadro"
² Dipartimento di Anatomia, Farmacologia e Medicina Legale, Università degli Studi di Torino

INTRODUZIONE

La commercializzazione dei primi farmaci antidepressivi (triciclici e inibitori delle monoaminoossidasi) e antipsicotici (fenotiazine e butirrofenoni) ha senza dubbio fornito un contributo decisivo all'intenso sviluppo della psicofarmacologia avvenuto nella seconda metà del secolo scorso. In particolare gli antipsicotici tipici, utilizzati con successo per oltre 50 anni nel trattamento di pazienti schizofrenici, bipolari psicotici o in stato di agitazione psicomotoria, sono risultati essenziali nella risoluzione dei casi più gravi, a elevato rischio di mortalità, e hanno consentito un miglioramento di quadri clinici un tempo ritenuti intrattabili. Tuttavia l'impiego terapeutico di antipsicotici a intensa azione antidopaminergica D₂ genera sindromi neurologiche più o meno gravi,

principalmente legate alla compromissione dell'abilità motoria. L'elevata incidenza di disturbi extrapiramidali causata dall'uso cronico degli antipsicotici tipici ha dato grande impulso alla ricerca di nuove molecole che, pur mantenendo la stessa efficacia dei composti già in uso, fossero dotate di un migliore profilo di sicurezza. I risultati scaturiti dallo sforzo congiunto della ricerca industriale e accademica hanno condotto, verso la fine del secolo scorso, alla "rivalutazione" di clozapina e alla scoperta di altri antipsicotici atipici. Le peculiari caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche di questi ultimi hanno fatto di questi farmaci degli strumenti terapeutici di indubbia efficacia, con un profilo di effetti avversi decisamente favorevole e una tossicità comportamentale inferiore rispetto ai composti tipici, in particolare nell'impiego a lungo termine.

Corresponding author
Dott. Orsetti Marco
marco.orsetti@pharm.unipmn.it

Recettore	K_d (nM)
α_1 -adrenergico	8,1
H_1 istaminergico	19
5HT _{2A} serotoninergico	31
α_2 -adrenergico	80
5HT _{1A} serotoninergico	300
5HT _{1D} serotoninergico	560
D ₂ dopaminergico	770
Colinergico muscarinico	1.400

Tabella I
Affinità (inversamente proporzionale alla K_d) di QTP per vari tipi di recettore. Modificata da [1]

Clozapina, il primo antipsicotico atipico, è stata sintetizzata in Svizzera nel 1959 dalla Sandoz-Wander. Nel 1975, a causa di alcuni decessi per agranulocitosi, è stata ritirata dal commercio nella maggior parte dei mercati mondiali per poi essere reintrodotta, a partire dagli Stati Uniti, nel 1990, limitatamente al trattamento di pazienti schizofrenici resistenti agli antipsicotici tipici. Lo sviluppo di analoghi con caratteristiche di atipicità simili a clozapina, ma dotati di un migliore profilo di sicurezza, ha portato, nel 1984, alla sintesi del composto ICI 204636, successivamente denominato quetiapina (QTP).

Il presente articolo, pur fornendo una panoramica degli studi clinici, si focalizza principalmente sulla ricerca preclinica che ha

recettori 5HT_{2A} della serotonina rispetto ai recettori D2 dopaminergici [1]. Il profilo di affinità recettoriale di QTP è illustrato nella Tabella I e l'effetto del farmaco sui sistemi noradrenergico e serotoninergico è illustrato nella Figura 1.

Nella Tabella I viene utilizzato come indicatore di affinità la costante di dissociazione K_d , che è la concentrazione molare alla quale si ha il 50% di legame tra farmaco e recettore. Tanto più grande è il valore della K_d , tanto più bassa è quindi l'affinità del farmaco per il recettore. Dai valori riportati in Tabella I si può rilevare come QTP abbia azione prevalente sui sistemi noradrenergico e serotoninergico e scarsa attività antidopaminergica, in quanto presenta affinità 25 volte maggiore per i recettori 5HT_{2A} e addirittura 95 volte maggiore per i recettori α_1 -adrenergici rispetto ai D₂ dopaminergici. Ciò implica una bassa frequenza di comparsa di effetti avversi di natura extrapiramidale e di iperprolattinemia nell'intervallo di dosi terapeutiche.

Come si può vedere nella Figura 1, i recettori α_2 sono localizzati sui terminali assonici noradrenergici dove, in qualità di autorecettori presinaptici, hanno funzione inibitoria sulla sintesi e liberazione di NA. Si trovano anche sui neuroni serotoninergici dove, in qualità di eterorecettori presinaptici, regolano negativamente la liberazione della 5HT. QTP, essendo un α_2 -antagonista, rimuove l'inibizione dei recettori α_2 e determina quindi un potenziamento di entrambi i sistemi. Il potenziamento della trasmissione serotoninergica da parte di QTP è completato anche dall'attività agonista parziale del farmaco ai recettori somatodendritici 5HT_{1A}, che riduce nei nuclei del rafe l'azione inibitoria di questi recettori nei confronti del firing dei neuroni serotoninergici, e dal blocco degli autorecettori presinaptici ad azione inibitoria 5HT_{1D}. Il quadro complesso di interazione di QTP con i sistemi serotoninergico e noradrenergico determina in ultima analisi un aumento delle risposte mediate da tutti i recettori post-sinaptici per la NA e la 5HT, ma non di quelle dei recettori 5HT_{2A} e α_1 , in quanto questi recettori sono bloccati dalla presenza del farmaco. L'antagonismo nei confronti dei recettori α_1 -adrenergici può determinare ipotensione ortostatica mentre l'elevata affinità e il blocco dei recettori H_1 conferisce a QTP blande proprietà sedative. Inoltre, la ridotta attività antimuscarinica è indicativa di un profilo non sfavorevole del farmaco nei confronti delle funzioni cognitive superiori.

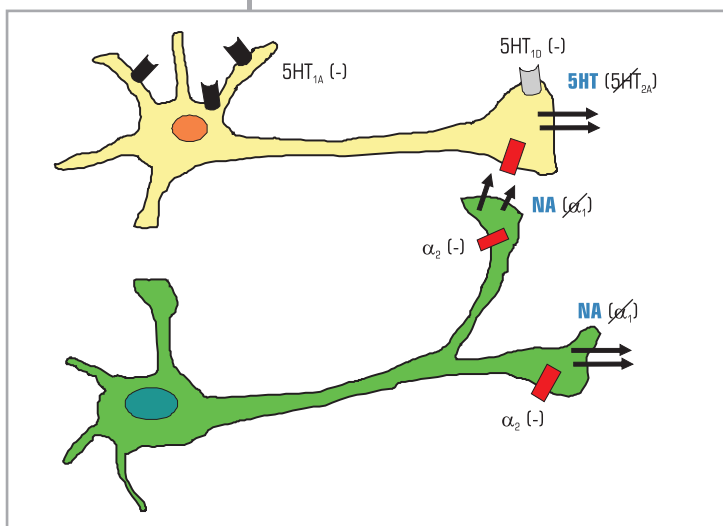


Figura 1
Siti d'azione della quetiapina nel sistema serotoninergico (rappresentato dal neurone giallo) e nel sistema noradrenergico (rappresentato dal neurone verde)

consentito di mettere in luce il meccanismo molecolare del farmaco.

MECCANISMO D'AZIONE

QTP è una dibenzotiazepina che, al pari di altri atipici, ha un'affinità maggiore per i

STUDI CLINICI

Efficacia clinica di QTP come antipsicotico

QTP fumarato ha ricevuto l'approvazione dalla FDA nel 1997 per il trattamento acuto della schizofrenia. L'efficacia come antipsicotico della QTP è ben documentata da numerosi studi clinici, i primi pubblicati oltre quindici anni fa [2-6]. Studi più recenti dimostrano l'efficacia di QTP anche nel trattamento dei pazienti bipolari affetti da mania acuta. McIntyre e colleghi [7] hanno effettuato uno studio controllato su 302 pazienti in fase maniacale acuta confrontando l'efficacia di QTP, aloperidolo e del placebo: la remissione della sintomatologia è risultata maggiore nei gruppi trattati con antipsicotici rispetto al placebo dopo 3 settimane di trattamento. QTP ha dimostrato una buona efficacia clinica nei confronti degli episodi di mania anche in associazione con altri stabilizzanti dell'umore [8,9].

Efficacia clinica di QTP come antidepressivo

Sintomi depressivi nel paziente schizofrenico

La comparsa di una sindrome depressiva in pazienti schizofrenici può variare tra il 25% e il 60% [10-12] ed è associata a un'elevata frequenza di suicidio [13]. Alcuni studi clinici suggeriscono che il trattamento con antipsicotici atipici possa essere efficace in tali pazienti e, in particolare, Arvanitis e colleghi [14] hanno dimostrato che QTP (al contrario di aloperidolo) è in grado di alleviare i sintomi della depressione in pazienti schizofrenici. Kasper [15], in un altro studio effettuato su 415 pazienti schizofrenici, riporta che l'efficacia di QTP nei confronti dei sintomi d'ansia e della depressione, rilevata durante la fase acuta (prime 6 settimane), è presente ancora dopo 3 anni di trattamento.

Depressione bipolare

Anche la depressione bipolare è stata oggetto di interesse per quanto riguarda il possibile impiego di QTP. Due studi controllati, conosciuti come BOLDER I e II, hanno valutato l'efficacia di QTP in pazienti depressi affetti da disturbo bipolare I e II, confrontando gli effetti prodotti dalla somministrazione giornaliera di 300 e 600 mg. In BOLDER I [16] sono stati coinvolti 542 pazienti bipolari I e II e QTP si è dimostrata efficace a partire dalla prima settimana di trattamento. Sia la

percentuale di rispondenti, sia la percentuale di pazienti che hanno raggiunto la completa remissione dei sintomi depressivi è risultata significativamente maggiore nei gruppi trattati con QTP rispetto al placebo. Anche il tempo di raggiungimento della completa remissione è stato significativamente più breve nei gruppi trattati con QTP rispetto al placebo. Lo studio BOLDER II [17], condotto su 509 pazienti con uno schema sperimentale analogo e utilizzando le stesse dosi di QTP, ha confermato i risultati dello studio precedente.

Disturbo depressivo maggiore

L'efficacia di QTP come terapia aggiuntiva per potenziare l'effetto dei farmaci antidepressivi è stata dimostrata da alcuni Autori [18-20] in studi clinici nei quali sono stati confrontati gli effetti dell'associazione QTP + antidepressivo con gli effetti del solo antidepressivo in pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore. La completa remissione dei sintomi nel malato di depressione maggiore è un obiettivo difficile da raggiungere: è stato stimato che circa il 50% dei pazienti non risponda alla terapia con gli antidepressivi attualmente in uso e che il 70% dei pazienti non raggiunga la guarigione definitiva con il trattamento a lungo termine [21,22]. Le possibili strategie di tipo farmacologico nei pazienti non-rispondenti prevedono la sostituzione o l'associazione del farmaco in uso con un altro antidepressivo a diverso meccanismo d'azione, oppure la terapia aggiuntiva con un farmaco non appartenente alla classe degli antidepressivi. In questo caso le opzioni possibili comprendono il litio, le benzodiazepine o gli antipsicotici atipici. In uno studio della durata di 6 settimane effettuato da Olver e colleghi [18], QTP (200-600 mg/die) si è dimostrata efficace in pazienti affetti da depressione maggiore parzialmente rispondenti o non-rispondenti ad antidepressivi SSRI e SNRI (selettivi serotoninergici e ad azione mista sui sistemi di ricaptazione delle monoamine). La terapia aggiuntiva con QTP provoca un evidente miglioramento dei sintomi che compare nelle prime settimane e una guarigione completa nel 94% dei pazienti al termine del periodo. Questi risultati sono stati confermati successivamente da Bauer e colleghi [20] in uno studio multicentrico su 493 pazienti parzialmente rispondenti alla terapia con SSRI, SNRI, amitriptilina o bupropione. I soggetti, suddivisi in modo casuale in tre gruppi, hanno ricevuto per 6 settimane

il trattamento precedente più placebo, 150 o 300 mg/die di QTP. Il miglioramento dei sintomi depressivi è risultato statisticamente significativo nei gruppi trattati con QTP 150 o 300 mg/die rispetto al placebo già dopo una settimana di trattamento e si è mantenuto tale fino al termine del periodo di sperimentazione. QTP sembra più efficace del placebo anche quando viene somministrata in associazione con una terapia cognitivo-comportamentale in pazienti resistenti sia al trattamento con antidepressivo, sia alla terapia combinata antidepressivo + litio [23].

Se l'associazione antidepressivo-antipsicotico atipico può essere giustificata dalla maggiore efficacia e, in parte, anche dalla più rapida comparsa dell'effetto, l'ulteriore somministrazione di un farmaco al paziente può comportare un maggiore rischio di comparsa di effetti indesiderati e la compromissione dell'esito finale della terapia. Da questo punto di vista, il trattamento del paziente depresso con il solo antipsicotico atipico in sostituzione dell'antidepressivo tradizionale rappresenta una nuova e interessante strategia terapeutica. Due recenti studi clinici hanno valutato l'efficacia della monoterapia con QTP fumarato a rilascio prolungato nel trattamento di pazienti affetti da depressione unipolare. Weisler e colleghi [24] hanno reclutato 723 pazienti e li hanno suddivisi in 4 gruppi per il trattamento con placebo, 50, 150 o 300 mg/die di QTP. Dopo 6 settimane di terapia è stata riscontrata una significativa riduzione dei sintomi nei pazienti trattati con tutte le dosi di QTP rispetto al placebo anche se dallo studio emerge che la dose di QTP più efficace è quella intermedia. In un secondo studio [25] l'efficacia di QTP fumarato a rilascio prolungato è stata confrontata con quella di duloxetina, antidepressivo ad azione mista serotoninergica/noradrenergica. Sono stati inclusi nello studio 612 pazienti con diagnosi di disturbo depressivo maggiore, suddivisi in modo casuale in 4 gruppi per il trattamento con placebo, duloxetina 60 mg/die, QTP 150 mg/die o QTP 300 mg/die. Dopo 6 settimane è stato riscontrato un netto miglioramento del quadro clinico nei gruppi di pazienti trattati con QTP e duloxetina rispetto al placebo. Rispetto allo studio di Weisler e colleghi [24], la massima efficacia di QTP è stata osservata a dosi più elevate (300 mg/die).

Efficacia clinica di QTP come ansiolitico

Alcuni studi citati in precedenza, oltre ai risultati relativi all'efficacia di QTP nei con-

fronti dei sintomi depressivi, hanno riportato gli effetti benefici del farmaco (terapia combinata o monoterapia) sulla sintomatologia ansiosa associata ai disturbi dell'umore [16,17,20,24,25]. In uno studio pilota di Katzman e colleghi [26] sono stati arruolati 40 pazienti affetti da disturbo da ansia generalizzata non rispondenti a 8 settimane di terapia tradizionale per effettuare una terapia combinata ansiolitico + QTP (dose media 386 mg/die). Al termine delle 12 settimane di somministrazione di QTP i risultati indicano una significativa diminuzione del punteggio totale della *Hamilton Anxiety rating scale* (HAM-A) rispetto alla condizione pre-trattamento e una remissione totale dei sintomi nel 72,1% dei pazienti. L'efficacia e la tollerabilità di QTP nel trattamento del disturbo d'ansia generalizzata sono state recentemente confermate in un vasto studio multicentrico nel quale sono stati inclusi 873 pazienti [27]. Nello studio in questione della durata complessiva di 12 settimane, QTP fumarato a rilascio prolungato è stata somministrata in monoterapia (50 o 150 mg/die) e la sua efficacia è stata confrontata con quella del placebo e di paroxetina (20 mg/die), un SSRI largamente utilizzato nel trattamento dei disturbi d'ansia acuta e cronica. I risultati dimostrano che QTP può essere impiegata con successo anche nel trattamento dei disturbi d'ansia cronica in pazienti non rispondenti alle cure tradizionali con il non trascurabile vantaggio (per esempio rispetto a paroxetina) di ridurre la sintomatologia già nel corso della prima settimana di somministrazione.

STUDI PRECLINICI

Le numerose segnalazioni reperibili nella letteratura del settore clinico riguardanti le proprietà antidepressive e ansiolitiche di QTP e di altri antipsicotici atipici (olanzapina per esempio), confermano l'utilità di questi psicofarmaci e indicano per alcuni di essi la concreta possibilità di estensione delle attuali indicazioni terapeutiche. Tali studi, tuttavia, non consentono di trarre indicazioni importanti sui possibili bersagli subcellulari del farmaco o sui meccanismi molecolari che sottendono la sua efficacia clinica. Le indicazioni cliniche dovrebbero perciò essere estese, confermate e approfondite in studi preclinici utilizzando (quando possibile) modelli *in vivo* che riproducano la patologia umana. I modelli animali costitui-

scono strumenti indispensabili per la ricerca in campo biologico in quanto consentono di riprodurre in organismi più semplici le caratteristiche essenziali di alcune patologie della specie umana. In particolare, i modelli animali dei disturbi psichiatrici possono essere definiti come “insoliti stati comportamentali” che possono essere contrastati in modo specifico dalla stessa terapia farmacologica in grado di controllare i sintomi della malattia e, almeno dal punto di vista teorico, devono presentare analogie con il disturbo umano nella sintomatologia, nell'eziopatogenesi e nella risposta al trattamento. La depressione tuttavia, come altre patologie psichiatriche, coinvolge processi cognitivi, emozionali e motivazionali difficilmente riproducibili nell'animale da laboratorio. Inoltre, alcuni sintomi della depressione umana come l'ideazione suicidaria, la ridotta autostima e i ricorrenti sensi di colpa, non possono essere ricreati nell'animale e rappresentano quindi un ostacolo alla realizzazione del modello preclinico. Tra i numerosi modelli animali di depressione sviluppati nel corso degli anni, lo stress cronico variato (*Chronic Mild Stress*, CMS) è senza dubbio quello che meglio soddisfa i tre criteri di validità proposti da Willner [28]. Il primo di questi criteri è la “validità predittiva” o “isomorfismo farmacologico”, cioè la corrispondenza tra l'effetto del farmaco nel modello e la sua efficacia clinica, nel caso specifico la capacità del modello animale di rispondere ai farmaci antidepressivi. Il secondo è la “validità d'aspetto”, cioè la corrispondenza tra le modificazioni fisiologiche e comportamentali prodotte nel modello animale e i sintomi della patologia umana, mentre il terzo è la “validità del costrutto”, ovvero la corrispondenza tra il modello e la patologia alla luce delle attuali conoscenze sull'eziopatogenesi della depressione. Il CMS è un modello naturalistico ideato da Katz [29] e perfezionato successivamente da Willner [30], nel quale l'animale (tipicamente il ratto) viene sottoposto giornalmente per un periodo di 4-6 settimane a blandi stimoli stressogeni non evitabili, somministrati in successione casuale. Il protocollo CMS determina l'insorgenza di anedonia (progressiva perdita di interesse e piacere per attività normalmente gratificanti), un sintomo-cardine della patologia depressiva umana che, nel piccolo roditore, viene misurata con tecniche non invasive quali, per esempio, la diminuzione della preferenza nei confronti di una soluzione di saccarosio (1-2%), normalmente molto gra-

data all'animale. Oltre alla diminuzione delle risposte agli stimoli appetitivi, il CMS provoca altri sintomi paragonabili a quelli della depressione umana. Sono stati osservati, per esempio, diminuzione del comportamento sessuale e del comportamento esplorativo, aggressività e rallentamento dell'attività motoria [31]. Gli animali rispondono allo stress cronico anche con cambiamenti nei ritmi circadiani [32] e con disturbi del sonno [33]. Sono state descritte anche alterazioni del sistema immunitario con aumento dei livelli di proteine del sistema del complemento e di proteine caratteristiche della fase acuta dell'infiammazione [34], diminuzioni del peso del timo e minore attività dei linfociti natural killer [35]. La somministrazione cronica di farmaci antidepressivi è in grado di contrastare i sintomi provocati dal CMS e, come nell'uomo, una completa risposta al trattamento richiede 3-5 settimane.

Effetti del trattamento cronico con QTP nel CMS, un modello animale di depressione

A tutt'oggi, due soli antipsicotici atipici, QTP e olanzapina (OLZ), sono stati utilizzati nel modello CMS per confermare le osservazioni cliniche sulla loro possibile efficacia antidepressiva. Per entrambi i farmaci i dosaggi scelti per la somministrazione cronica sono quelli compresi nella fascia inferiore del range terapeutico e la durata complessiva del trattamento è stata di almeno 3 settimane. Particolare attenzione è stata rivolta allo sviluppo dell'effetto in funzione del tempo, misurando ogni settimana le modificazioni individuali della preferenza al saccarosio [36,37]. L'efficacia del trattamento cronico con QTP (0,4-2 o 10 mg/kg/die) nei confronti dell'anedonia indotta dall'applicazione del protocollo CMS è stata confrontata con quella di amitriptilina (2 o 5 mg/kg/die) [37]. Dopo 6 settimane di stress cronico solo la dose intermedia di QTP ha dimostrato un'efficacia pari a quella di amitriptilina nel contrastare l'anedonia indotta dal CMS, mentre le altre due dosi impiegate nello studio (0,4 e 10 mg/kg/die) sono risultate inattive (Tabella II).

L'effetto antidepressivo di QTP si sviluppa con un profilo temporale del tutto simile a quello di amitriptilina, in quanto compare 5 settimane dopo l'inizio del trattamento. L'analisi dei dati sperimentali suggerisce due importanti considerazioni: la prima è che l'effetto antidepressivo di QTP com-

pare nel modello animale CMS a dosaggi compresi nella fascia bassa del range terapeutico (indicativamente tra 100 e 250 mg/die), in accordo con quanto indicato dagli studi clinici; la seconda considerazione è che i meccanismi molecolari che sottendono l'efficacia di QTP e di amitriptilina nel modello CMS sono probabilmente simili e l'effetto antidepressivo di questi due farmaci non può essere provocato, come nel caso di OLZ [36], da un meccanismo "acuto" come il blocco del recettore 5HT_{2A} della serotonina in quanto l'insorgenza dell'effetto è ritardata. Gefvert e colleghi [38] hanno studiato *in vivo* in pazienti schizofrenici la percentuale di occupazione recettoriale D₂ e 5HT_{2A} dopo somministrazione di QTP: a una dose pari a 450 mg/die, il farmaco occupa solo il 57% dei recettori 5HT_{2A} e una percentuale molto bassa di recettori D₂ dopaminergici (< 30%). Dal momento che le dosi di QTP utilizzate da Gefvert e colleghi [38] sono 2-3 volte superiori rispetto a quelle capaci di contrastare i sintomi clinici della depressione o l'anedonia nel modello CMS, è ragionevole escludere che l'efficacia antidepressiva di QTP possa essere determinata dal blocco del recettore 5HT_{2A} o da un meccanismo anti-dopaminergico D₂.

Recenti ipotesi sul meccanismo d'azione di QTP

Metaboliti attivi di QTP

QTP viene biotrasformata nella fase I del metabolismo epatico ad opera delle monoossigenasi a funzione mista P450-dipendenti. L'isoforma del citocromo P450 coinvolta sembra essere la CYP3A4 e dalle reazioni di fase I si formano numerosi metaboliti, dei quali poco si conosce circa la possibile attività farmacologica. Tra questi il più studiato è senza dubbio N-desalchil-QTP, derivato da QTP per rimozione della catena laterale dall'anello piperazinico. L'analisi del profilo di affinità recettoriale di N-desalchil-QTP rivela che il metabolita, rispetto a QTP, ha una maggiore affinità nei confronti dei re-

ettori 5HT_{1A} (circa 10 volte), dei recettori 5HT₇ (circa 4 volte) e soprattutto dei recettori muscarinici colinergici [39]. Studi funzionali su cellule isolate hanno dimostrato che N-desalchil-QTP è un agonista parziale ai recettori 5HT_{1A} con una efficacia superiore a quella di QTP e paragonabile a quella degli ansiolitici buspirone e gepirone. Un dato particolarmente interessante riguarda la capacità di N-desalchil-QTP di bloccare l'attività dei neurotrasportatori della NA e della 5HT: in cellule HEK 293 trasfettate con neurotrasportatori di specie umana per la NA (hNET), la 5HT (hSERT) e la DA (hDAT), il metabolita di QTP ha dimostrato di possedere un'elevata e selettiva attività bloccante nei confronti del hNET rispetto al hSERT (oltre 100 volte) e nessuna attività nei confronti del hDAT. Al contrario, QTP possiede solo un'attività molto debole verso il hNET ed è inattiva nei confronti degli altri neurotrasportatori. È possibile che alcune proprietà farmacologiche del metabolita (blocco della ricaptazione della NA, agonismo parziale ai recettori 5HT_{1A} e antagonismo nei confronti del recettore 5HT₇) giochino un ruolo importante nell'effetto antidepressivo di QTP e, secondo Jensen e colleghi [39], potrebbero spiegare la comparsa ritardata di tale effetto. La capacità di bloccare la ricaptazione delle monoamine è infatti una proprietà ben nota di molti farmaci antidepressivi e gli agonisti parziali del recettore 5HT_{1A} serotoninergico posseggono attività ansiolitica e antidepressiva. Inoltre, i recettori 5HT₇ sembrano coinvolti nella eziopatogenesi della depressione e dei disturbi del sonno e i composti che, al pari di N-desalchil-QTP bloccano il recettore 5HT₇, si sono dimostrati attivi nel test del nuoto forzato di Porsolt, che consente di valutare nel piccolo roditore l'efficacia dei farmaci antidepressivi [40]. La dimostrazione sperimentale che N-desalchil-QTP ha attività antidepressiva è stata fornita da Jensen e colleghi [39] i quali, in una linea di topi mutanti (gene Vmat2), hanno osservato una diminuzione del tempo di immobilità

Tabella II
Variazione percentuale del consumo di saccarosio, indicativo dello stato anedonico del ratto sottoposto al protocollo CMS dopo somministrazione cronica di salina, QTP e amitriptilina. Dati espressi come media ± SEM. Modificata da [37]

* p < 0,01 nei confronti del gruppo trattato con salina (t di Student per dati non appaiati)

Trattamento	7° gg	14° gg	21° gg	28° gg	35° gg	42° gg
Salina	85 ± 8	61 ± 8	57 ± 7	56 ± 8	51 ± 6	53 ± 5
Amitriptilina 2 mg/kg/die	91 ± 6	62 ± 4	58 ± 6	90 ± 5*	101 ± 7*	98 ± 6*
Amitriptilina 5 mg/kg/die	88 ± 7	61 ± 6	65 ± 5	88 ± 3*	96 ± 3*	99 ± 5*
QTP 0,4 mg/kg/die	85 ± 7	75 ± 7	56 ± 4	63 ± 5	51 ± 6	54 ± 4
QTP 2 mg/kg/die	87 ± 4	78 ± 7	59 ± 5	69 ± 7	92 ± 4*	97 ± 5*
QTP 10 mg/kg/die	92 ± 6	64 ± 5	65 ± 6	68 ± 7	66 ± 10	68 ± 9

nel test di sospensione per la coda dopo somministrazione acuta e cronica del metabolita di QTP. La linea di topi *Vmat2* è stata ottenuta dal ceppo 129/C57BL6 mediante delezione dei domini transmembrana 3 e 4 della proteina *Vmat2*, il trasportatore vescicolare delle monoamine [41]. Negli animali eterozigoti (*Vmat2* HET) tale mutazione è compatibile con la vita, gli animali mostrano una ridotta funzionalità monoaminergica centrale e sviluppano un fenotipo “depresso”, come dimostra l’aumento del tempo di immobilità nel test di sospensione per la coda [42]. N-desalchil-QTP, somministrata in acuto (0,1-0,5 o 1 mg/kg) o in trattamento cronico per 14 giorni (0,5 mg/kg/die) aumenta il tempo d’immobilità dei topi *Vmat2* HET nel test di sospensione per la coda, ripristinando il comportamento tipico degli animali *wild type*.

Modificazioni della trascrizione genica

L’interferenza con la funzione di uno o più sistemi neurochimici determinata dall’attivazione o dal blocco di proteine recettoriali, dall’inibizione di enzimi della sintesi o del catabolismo o ancora dalla modificazione dei sistemi di “spegnimento” del segnale nelle sinapsi sono tutti meccanismi che possono determinare effetti acuti, cioè effetti che compaiono in tempi rapidi. La presenza costante di uno stimolo non fisiologico (per esempio lo stress cronico o la somministrazione ripetuta di un farmaco psicoattivo) che per lungo tempo interferisce con la funzionalità di un sistema neurochimico attraverso uno dei meccanismi citati, può provocare nel cervello modificazioni permanenti delle vie di trasduzione del segnale, dei livelli di neurotrofine, dei meccanismi di apoptosi e, in ultimo, dei fenomeni di plasticità neuronale. L’orientamento oggi prevalente per ciò che concerne l’eziopatogenesi delle malattie psichiatriche è che, oltre ai possibili fattori di rischio legati alla predisposizione genetica, sia importante la “pressione” esercitata da fattori di natura ambientale (stress fisico e psichico, condizioni e stile di vita, abuso di sostanze) che potrebbero agire come concausa o fattore scatenante. Per esempio, il polimorfismo di alcuni geni (quasi tutti legati alla funzione dei sistemi monoaminergici centrali) è stato indicato come responsabile della predisposizione genetica nei confronti del disturbo depressivo maggiore: l’enzima triptofano idrossilasi, responsabile della sintesi di 5HT [43], il neurotrasportatore responsabile della ricaptazione sinaptica della 5HT [44], il

recettore 5HT_{1A} [45], gli enzimi tirosina idrossilasi [46] e catecol-O-metiltransferasi [47], responsabili della sintesi e del catabolismo della NA, il neurotrasportatore della NA [48], i recettori D₂, D₃ e D₄ della dopamina [49] e la neurotrofina BDNF [50]. Parimenti, tra i fattori ambientali, lo stress cronico sembra giocare un ruolo prevalente nell’eziopatogenesi della depressione [51,52]. In sintesi, pur essendo considerata una malattia multifattoriale, la depressione può essere definita come una disfunzione nella quale i diversi fattori eziologici danno l’avvio a meccanismi cellulari differenti che tendono in ultimo a convergere su obiettivi comuni, modificando in alcune aree cerebrali la funzione di geni coinvolti nei fenomeni di sopravvivenza neuronale e rimodellamento dell’architettura sinaptica. I farmaci antidepressivi e la terapia elettroconvulsiva, in grado di contrastare con efficacia i sintomi della depressione, agirebbero anch’essi seguendo schemi analoghi ma in direzione opposta, ripristinando i meccanismi fisiologici di plasticità sinaptica.

Il tempo di latenza di 4-5 settimane necessario per la comparsa dell’effetto antidepressivo di QTP sembrerebbe indicare che anche questo farmaco agisce sugli stessi effettori intracellulari che costituiscono i bersagli degli antidepressivi e degli stabilizzanti dell’umore. Per verificare questa ipotesi, abbiamo studiato nel modello CMS le modificazioni della trascrizione genica provocate dalla somministrazione del protocollo di stress cronico e dal contemporaneo trattamento con salina o QTP 2 mg/kg/die [53]. Lo studio è stato effettuato utilizzando la tecnica del DNA *microarray*, che consente di “fotografare” il livello di trascrizione dell’intero genoma al momento del prelievo del tessuto cerebrale. Nel nostro studio abbiamo utilizzato il GeneChip® Rat Genome 230 2.0 dell’Affymetrix contenente le sequenze di 31.099 geni e abbiamo effettuato l’ibridizzazione con RNA totale proveniente dalla corteccia prefrontale di ratti naïve trattati con salina e ratti sottoposti al protocollo CMS (6 settimane) trattati con salina o QTP 2 mg/kg/die. QTP è efficace nel contrastare le modificazioni stress-indotte della regolazione di 42 geni, riportando i livelli di trascrizione ai valori basali (Tabella III; Tabella IV).

Il trattamento cronico con QTP è in grado di modificare anche la trascrizione di altri 19 geni, nei confronti dei quali il protocollo CMS non ha effetto (Tabella V; Tabella VI).

Tabella III

Geni la cui trascrizione è diminuita dallo stress cronico e aumentata dal trattamento cronico con QTP 2 mg/kg/die. QTP al termine della sperimentazione riporta i livelli di trascrizione ai valori basali.

* il risultato del DNA microarray è stato confermato in successivi esperimenti con la tecnica real time PCR. Modificato da [53]

UniGene ID	Simbolo	Nome del gene
Rn.53933	Gpsm1	G-protein signaling modulator 1
Rn.91884	Syt7	Synaptotagmin 7
Rn.22981	Phactr1	Phosphatase and actin regulator 1
Rn.203139	Clic1	Chloride intracellular channel 1
Rn.91245	Gad1	Glutamate decarboxylase 1 [#]
Rn.10346	Gja1	Gap junction membrane channel protein alpha
Rn.9367	Senp2	SUMO/sentrin specific protease 2 [#]
Rn.161799	Itga6	Integrin, alpha 6
Rn.37500	Homer1	Homer homolog 1 (Drosophila) [#]
Rn.10040	Grid1	Glutamate receptor, ionotropic, delta 1
Rn.107499	Camk2a	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha subunit [#]
Rn.10691	Nrcam	Neuron-glia-CAM-related cell adhesion molecule
Rn.45523	Plcb1	Phospholipase C, beta 1 [#]
Rn.40435	Nfib	Nuclear factor I/B [#]
Rn.64565	Ttpa	Tocopherol (alpha) transfer protein
Rn.9439	Slc7a1	Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 1
Rn.33319	Acadvl	Acyl-coenzyme A dehydrogenase, very long chain
Rn.207207	Mertk	C-mer proto-oncogene tyrosine kinase
Rn.207886	Pex2	Peroxin 2
Rn.888	Hsd11b1	Hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1
Rn.15133	Numbl	Numb-like
Rn.207527	Cacng8	Calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 8
Rn.161851	Sfxn5	Sideroflexin 5

Tabella IV

Geni la cui trascrizione è aumentata dallo stress cronico e diminuita dal trattamento cronico con QTP 2 mg/kg/die. QTP al termine della sperimentazione riporta i livelli di trascrizione ai valori basali.

* il risultato del DNA microarray è stato confermato in successivi esperimenti con la tecnica real time PCR. Modificato da [53]

UniGene ID	Simbolo	Nome del gene
Rn.27923	Btg2	B-cell translocation gene 2, antiproliferative
Rn.15806	Junb	Jun-B oncogene [#]
Rn.1441	Gdi2	GDP dissociation inhibitor 2
Rn.2178	Ghr	Growth hormone receptor
Rn.34151	Sybl1	Synaptobrevin-like 1
Rn.44369	Ptgs2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 [#]
Rn.10627	Tmsb1	Thymosin beta-like protein 1
Rn.103750	Fos	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
Rn.48672	Ramp3	Receptor (calcitonin) activity modifying protein 3
Rn.91523	Eif4a1	Eukaryotic translation initiation factor 4A1
Rn.203382	RragB	Ras-related GTP binding B
Rn.4054	Acat1	Acetyl-coenzyme A acetyltransferase 1
Rn.13196	Bzw2	Basic leucine zipper and W2 domains 2
Rn.3361	Eif1a	Eukaryotic translation initiation factor 1A
Rn.42893	Cnksr2	Connector enhancer of kinase suppressor of Ras 2
Rn.52632	Serpini1	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade I, member 1
Rn.16015	Wfs1	Wolfram syndrome 1 homolog (human)
Rn.98260	Dusp1	Dual specificity phosphatase 1
Rn.9560	Marcks	Myristoylated alanine rich protein kinase C Substrate [#]

I geni coinvolti nelle modificazioni comportamentali del modello CMS, nei confronti dei quali QTP mostra la sua efficacia terapeutica, sono stati classificati dal punto di vista funzionale seguendo le indicazioni del *Gene Ontology Consortium*. I risultati indicano che i possibili effettori dell'azione antidepressiva di QTP sono implicati in processi biologici cruciali per lo sviluppo e la sopravvivenza neuronale quali regolazione della trasduzione del segnale, biogenesi e organizzazione delle membrane, morfogenesi dei contatti sinaptici, trasporto dei cationi inorganici, catabolismo lipidico e sviluppo del sistema nervoso centrale. Alcuni risultati del DNA *microarray* sono stati successivamente confermati mediante PCR *real time*, una tecnica che consente di valutare in modo più accurato le concentrazioni tissutali di RNA messaggero relativo a ogni singolo gene.

Ptgs2. Numerose osservazioni mettono in relazione la depressione con i processi infiammatori [54]. La somministrazione di citochine pro-infiammatorie negli animali provoca la ben nota malattia da "citochine" (*sickness behavior*), di cui sintomi tipici sono anoressia, rallentamento psicomotorio, anergia, disturbi del sonno e anedonia [55]. *Ptgs2* è il gene che codifica per l'isoforma induci-

bile della cicloossigenasi (COX-2), enzima limitante la sintesi delle prostaglandine. La sua sovraregolazione, già osservata da altri autori in modelli preclinici di depressione diversi dal CMS [56], comprova l'ipotesi che lo stress possa indurre una risposta infiammatoria nel sistema nervoso centrale e che ciò costituisca una condizione predisponente l'insorgenza di patologie psichiatriche. In accordo con questi studi, i nostri risultati confermano che lo stress cronico può provocare nel sistema nervoso centrale un aumento dei *marker* della risposta infiammatoria correlabile con la comparsa dei sintomi della depressione e che tale processo potrebbe essere contrastato dal trattamento cronico con QTP. Lee e colleghi [57], hanno dimostrato che lo stress da immobilizzazione induce morte neuronale nella corteccia cerebrale di ratto e questo processo sembra essere mediato da una sovraregolazione di *Ptgs2*, della NADPH ossidasi, dell'interleuchina 1B e da un incremento della concentrazione di specie reattive dell'ossigeno. Nello studio di Lee e colleghi [57] il pretrattamento con antiossidanti protegge dalla morte neuronale. L'effetto di QTP sul gene *Ptgs2* da noi osservato potrebbe perciò costituire una conferma del possibile ruolo di questo farmaco come agente neuroprotettivo.

UniGene ID	Simbolo	Nome del gene
Rn.11231	Dnm2	Dynamin 2
Rn.11218	Col12a1	Procollagen, type XII, alpha 1
Rn.208889	Pde8b	Phosphodiesterase 8B
Rn.22422	Hes5	Hairy and enhancer of split 5 (Drosophila)#
Rn.9822	Rab3d	RAB3D, member RAS oncogene family
Rn.57243	Gpr64	G protein-coupled receptor 64
Rn.34842	Tax1bp3	Tax1 (human T-cell leukemia virus type I) binding protein 3
Rn.1023	Scd1	Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1
Rn.10014	Fabp7	Fatty acid binding protein 7, brain

UniGene ID	Simbolo	Nome del gene
Rn.46942	Elovl6	ELOVL family member 6, elongation of long chain fatty acids (yeast)
Rn.98337	Chd8	Chromodomain helicase DNA binding protein 8
Rn.98522	Rbms1	RNA binding motif, single stranded interacting protein 1
Rn.6431	Igfbp6	Insulin-like growth factor binding protein 6
Rn.72939	Cacng2	Calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 2
Rn.6272	Kpna1	Karyopherin (importin) alpha 1
Rn.9903	Capon	C-terminal PDZ domain ligand of neuronal nitric oxide synthase#
Rn.44869	Pde10a	Phosphodiesterase 10A
Rn.22361	Rtn4r1	Reticulon 4 receptor-like 1
Rn.91185	Mobp	Myelin-associated oligodendrocytic basic protein

Tabella V

Geni la cui trascrizione non è modificata dallo stress cronico ma è aumentata dal trattamento cronico con QTP 2 mg/kg/die

il risultato del DNA microarray è stato confermato in successivi esperimenti con la tecnica real time PCR. Modificato da [53]

Tabella VI

Geni la cui trascrizione non è modificata dallo stress cronico ma è diminuita dal trattamento cronico con QTP 2 mg/kg/die.

il risultato del DNA microarray è stato confermato in successivi esperimenti con la tecnica real time PCR. Modificato da [53]

Gad1. Diversi studi sembrano includere il sistema GABAergico tra i possibili responsabili della patogenesi della depressione. In studi condotti su animali, lo stress cronico diminuisce i livelli di GABA in diverse aree cerebrali [58] ma una riduzione di circa il 52% dei livelli di GABA è stata riscontrata anche nella corteccia occipitale di pazienti depressi da Sanacora e colleghi [59]. Gad1 è l'enzima responsabile della sintesi del GABA e svolge un ruolo critico nel mantenimento dei livelli di GABA nel cervello. La diminuzione della trascrizione di Gad1 osservata nella corteccia frontale dei ratti sottoposti a CMS è in linea con l'ipotesi secondo la quale la depressione può essere associata a una diminuzione dei livelli di GABA nel cervello. Inoltre, la sovraespressione di Gad1 da parte di QTP conferma i risultati di studi precedenti che riportano un aumento dell'espressione corticale di Gad1 dopo trattamento cronico con clozapina [60,61] e acido valproico [62].

Plcb1. Plcb1 è un gene che codifica per un enzima abbondantemente espresso nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale, responsabile della conversione del fosfatidilinositolo 4,5-bisfosfato a inositolo 1,4,5-trifosfato e diacilglicerolo (due secondi messaggeri intracellulari che regolano i flussi di Ca^{2+} intracellulare). Arinami e colleghi [63] hanno descritto una possibile associazione tra la schizofrenia e il gene Plcb1 mentre Shirakawa e colleghi [64] hanno osservato un'anormale espressione di questo gene nei pazienti schizofrenici. Inoltre, nel *learned helplessness*, un modello animale di depressione, l'espressione della fosfolipasi C è diminuita nell'ippocampo e nella corteccia frontale [65]. È quindi possibile il coinvolgimento di questo gene in patologie come la schizofrenia e la depressione e la sovraespressione di Plcb1 ad opera di QTP potrebbe rappresentare uno dei possibili meccanismi alla base della sua efficacia terapeutica.

Senp2. Il CMS induce diminuzione e la terapia con QTP aumento dell'espressione di Senp2, gene implicato nei processi di sumoilazione. Nei neuroni la sumoilazione è una modifica post-traduzionale che coinvolge il legame di uno o più gruppi SUMO a proteine-bersaglio. La proteasi Senp2 ha la funzione specifica di rompere i legami tra SUMO e le proteine-bersaglio. Il processo di sumoilazione non è funzionalmente correlato con l'ubiquitinazione; infatti mentre il destino delle proteine ubiquitinate è la degradazione, la sumoilazione sembra pro-

vocare alterazioni dell'eccitabilità sinaptica e cambiamenti dinamici dei collegamenti sinaptici tra neuroni [66]. La presenza di proteine sumoilate è stata riscontrata in varie malattie neurodegenerative e, alcuni *marker* di queste malattie sono stati identificati come bersagli di SUMO [67]. I nostri dati indicano che nella corteccia prefrontale di ratti anedonici l'espressione di Senp2 è ridotta e che QTP è in grado di contrastare questa anomalia. Al momento non è possibile fornire un'interpretazione plausibile del legame che intercorre tra sumoilazione e depressione, anche se quella emersa nel nostro lavoro è la prima indicazione in tale senso.

Marcks. Marcks è un altro gene coinvolto nella via di trasduzione del fosfatidilinositolo che subisce modificazioni della trascrizione ad opera della stress cronico (aumento) e del trattamento con QTP (diminuzione). La proteina codificata da Marcks è uno dei substrati della proteina chinasi C ed è implicata nello sviluppo del cervello e nel rimodellamento del citoscheletro.

Studi preclinici indicano una diminuzione dell'espressione di Marcks da parte del litio [68] e del valproato [69], risultati recentemente confermati da McQuillin e colleghi [70] in uno studio di DNA *microarray*. Nell'insieme, i nostri risultati e i dati di letteratura sembrano confermare che QTP e stabilizzanti dell'umore condividono alcuni bersagli cellulari e agiscono con meccanismi d'azione simili.

Hes5. Lemonde e colleghi [71] hanno dimostrato una correlazione tra il polimorfismo del gene che codifica il recettore $5HT_{1A}$ e la predisposizione alla depressione. Il genotipo G(-1019) è infatti due volte più frequente nei pazienti depressi e quattro volte più frequente nei depressi morti per suicidio. Secondo gli autori, il polimorfismo C(-1019)G potrebbe modificare la regolazione dell'espressione del gene $5HT_{1A}$ alterando il legame di NUDR e Hes5, due repressori, alla regione del promotore del gene. Una diminuzione dell'attività di NUDR e Hes5 comporterebbe un aumento dell'espressione di recettori $5HT_{1A}$ (ad azione autoinibitoria) nei nuclei del rafe e la conseguente diminuzione della funzione serotoninergica. Un intervento terapeutico in grado di aumentare l'espressione di NUDR e Hes5 potrebbe quindi contribuire a riattivare la neurotrasmissione serotoninergica. Nel modello CMS QTP è in grado di provocare una sovraespressione di Hes5 nella corteccia prefrontale: se sarà possibile estendere questi

Farmaco	Episodio depressivo		Episodio maniacale		Episodio misto	
	Monoterapia	Terapia combinata	Monoterapia	Terapia combinata	Monoterapia	Terapia combinata
Quetiapina	X		X	X	X	X
Olanzapina		X	X	X	X	X
Risperidone			X	X	X	X
Aripiprazolo			X	X	X	X
Ziprasidone			X		X	

risultati anche ai nuclei del rafe, che rappresentano un'area critica per la funzione serotoninergica centrale, si potrà allora affermare che la regolazione di Hes5 (e indirettamente dell'espressione del recettore $5HT_{1A}$) è un probabile meccanismo responsabile dell'efficacia antidepressiva di QTP.

CONCLUSIONI

Il lancio sul mercato di QTP ha rappresentato solo l'inizio di un lungo percorso che ha consentito di mettere in evidenza tutto il potenziale di questa molecola nell'ambito della terapia delle malattie psichiatriche. In questo contesto, la ricerca preclinica, pur con i limiti che sono stati precedentemente ricordati, ha contribuito in modo determinante a confermare i dati clinici e a identificare i bersagli intracellulari e i meccanismi responsabili dell'efficacia del farmaco. Dunque, grazie anche al supporto della ricerca preclinica, QTP fumarato a rilascio prolungato in somministrazione orale, la più recente formulazione sviluppata, ha ricevuto l'approvazione da parte della *Food and Drug Administration* (FDA) per il trattamento acuto della schizofrenia nell'adulto il 17 maggio 2007. Oggi, a due anni dalla data di commercializzazione, il

prodotto ha ottenuto l'approvazione dalla FDA per la terapia di mantenimento della schizofrenia nell'adulto (novembre 2007), per il trattamento acuto degli episodi maniacali, depressivi e misti e per la terapia di mantenimento del disturbo bipolare I in aggiunta a litio e valproato, sempre nell'adulto (ottobre 2008). Le stesse indicazioni sono state approvate nell'Unione Europea, con procedura di mutuo riconoscimento che interessa 17 Paesi, nel novembre 2008. Inoltre l'azienda ha recentemente richiesto l'estensione delle indicazioni del prodotto anche al trattamento del disturbo depressivo maggiore e del disturbo d'ansia generalizzata (nell'adulto) e, al momento, è in attesa di una possibile approvazione. Sulla base di queste indicazioni, attualmente QTP è l'unico antipsicotico atipico approvato negli Stati Uniti e in Europa per il trattamento in monoterapia della depressione bipolare e, tra gli atipici, è l'unico che può essere oggi utilizzato in monoterapia per trattare l'intero spettro dei disturbi dell'umore nel malato bipolare (Tabella VII).

DISCLOSURE

Gli Autori dichiarano di non avere conflitti di interesse di natura finanziaria.

Tabella VII

Indicazioni terapeutiche degli antipsicotici atipici nel disturbo bipolare

BIBLIOGRAFIA

1. Richelson E, Souder T. Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors: focus on newer generation compounds. *Life Sci* 2000; 68: 29-39
2. Borison RL, Arvanitis LA, Miller BG, The US Seroquel Study Group. ICI 204,636, an atypical antipsychotic: efficacy and safety in a multicenter, placebo-controlled trial in patients with schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 1996; 16: 158-69
3. Small JG, Hirsch SR, Arvanitis LA, Miller BG, Link CG, The Seroquel Study Group. Quetiapine in patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 549-57
4. Peuskens J, Link CG. A comparison of quetiapine and chlorpromazine in the treatment of schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 1997; 96: 265-73

5. Arvanitis LA, Miller GB. Multiple fixed doses of Seroquel (quetiapine) in patients with acute exacerbation of schizophrenia: a comparison with haloperidol and placebo. The Seroquel Trial Study Group. *Biol Psychiatry* 1997; 42: 233-46
6. Copolov DL, Link CGG, Kowalczyk B. A multicentre, double-blind, randomised comparison of quetiapine (ICI 204,636, "Seroquel") and haloperidol in schizophrenia. *Psychol Med* 1997; 30: 95-106
7. McIntyre RS, Brecher M, Paulsson B, Huizar K, Mullen J. Quetiapine or haloperidol as monotherapy for bipolar mania – a 12-week, double-blind, randomised, parallel group, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 2005; 15: 573-85
8. Bowden CL, Grunze H, Mullen J, Brecher M, Paulsson B, Jones M et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled efficacy and safety study of quetiapine or lithium as monotherapy for mania in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2005; 66: 111-21
9. Yatham LN, Vieta E, Young AH, Moller HJ, Paulsson B, Vagero M. A double blind, randomized, placebo-controlled trial of quetiapine as an add-on therapy to lithium or divalproex for the treatment of bipolar mania. *Int Clin Psychopharmacol* 2007; 22: 212-20
10. Johnson DAW. The significance of depression in the prediction of relapse in chronic schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1988; 152: 320-3
11. Hirsch SR, Jolley AG. The dysphoric syndrome in schizophrenia and its implications for relapse. *Br J Psychiatry* 1989; 155:46-50
12. Martin RL, Cloninger CR, Guze SB, Clayton PJ. Frequency and differential- diagnosis of depressive syndromes in schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 1985; 46: 9-13
13. Meltzer HY, Collaborative Working Group on Clinical Trial Evaluations. Atypical antipsychotics for treatment of depression in schizophrenia and affective disorders. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 41-5
14. Arvanitis LA, Miller BG. Multiple fixed doses of "Seroquel" (quetiapine) in patients with acute exacerbation of schizophrenia: a comparison with haloperidol and placebo. The Seroquel Trial 13 Study Group. *Biol Psychiatry* 1997; 42: 233-46
15. Kasper S. Quetiapine is effective against anxiety and depressive symptoms in long-term treatment of patients with schizophrenia. *Depress Anxiety* 2004; 20: 44-7
16. Calabrese JR, Keck PE, Macfadden W, Minkwitz M, Ketter TA, Weisler RH et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of quetiapine in the treatment of bipolar I or II depression. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 1351-60
17. Thase ME, Macfadden W, Weisler RH, Chang W, Paulsson B, Khan A et al. Efficacy of quetiapine monotherapy in bipolar I and II depression: a double-blind, placebo-controlled study (the BOLDER II study). *J Clin Psychopharmacol* 2006; 26: 600-9
18. Olver JS, Ignatiadis S, Maruff P, Burrows GD, Norman TR. Quetiapine augmentation in depressed patients with partial response to antidepressants. *Hum Psychopharmacol* 2008; 23: 653-60
19. Garakani A, Martinez JM, Marcus S, Weaver J, Rickels K, Fava M et al. A randomized, double-blind, and placebo-controlled trial of quetiapine augmentation of fluoxetine in major depressive disorder. *J Int Clin Psychopharmacol* 2008; 23: 269-75
20. Bauer M, Pretorius HW, Constant EL, Earley WR, Szamosi J, Brecher M. Extended-release quetiapine as adjunct to an antidepressant in patients with major depressive disorder: results of a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *J Clin Psychiatry* 2009; 70: 540-9
21. Bauer M, Bschor T, Pfenning A, Whybrow PC, Angst J, Versiani M et al. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for biological treatment of unipolar depressive disorders in primary care. *World J Biol Psychiatry* 2007; 8: 67-104
22. Nemeroff CB. Prevalence and management of treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* 2007; 68 (Suppl 8): 17-25
23. Chaput Y, Magnan A, Gendron A. The co-administration of quetiapine or placebo to cognitive-behavior therapy in treatment refractory depression: a preliminary trial. *BMC Psychiatry* 2008; 8: 7
24. Weisler R, Joyce M, McGill L, Lazarus A, Szamosi J, Eriksson H; Moonstone Study Group. Extended release quetiapine fumarate monotherapy for major depressive disorder: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *CNS Spectr* 2009; 14: 299-313
25. Cutler AJ, Montgomery SA, Feifel D, Lazarus A, Aström M, Brecher M. Extended release quetiapine fumarate monotherapy in major depressive disorder: a placebo- and duloxetine-controlled study. *J Clin Psychiatry* 2009; 70: 526-39
26. Katzman MA, Vermani M, Jacobs L, Marcus M, Kong B, Lessard S et al. Quetiapine as an adjunctive pharmacotherapy for the treatment of non-remitting generalized anxiety disorder: a flexible-dose, open-label pilot trial. *J Anxiety Disord* 2008; 22: 1480-6

27. Bandelow B, Chouinard G, Bobes J, Ahokas A, Eggens I, Liu S et al. Extended-release quetiapine fumarate (quetiapine XR): a once-daily monotherapy effective in generalized anxiety disorder. Data from a randomized, double-blind, placebo- and active-controlled study. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 20: 1-16
28. Willner P. Animal models as simulations of depression. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 131-6
29. Katz R. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of hedonic deficit. *Pharmacol Biochem Behav* 1982; 16: 965-8
30. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 1987; 93: 358-64
31. D'Aquila P, Brain PF, Willner P. Effect of chronic mild stress in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav* 1994; 62: 421-6
32. Gorka Z, Morly E, Papp M. The effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54: 229-34
33. Cheeta S, Ruigt G, van Proosdij J, Willner P. Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 419-27
34. Ayensu WK, Pucilowski O, Mason GA, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiol Behav* 1995; 57: 165-9
35. Kubera M, Basta-Kaim A, Papp M. The effect of chronic treatment with imipramine on the immunoreactivity of animals subjected to chronic mild stress model of depression. *Immunopharmacology* 1995; 30: 225-30
36. Orsetti M, Colella L, Dellarole A, Canonico PL, Ferri S, Ghi P. Effects of chronic administration of olanzapine, amitriptyline, haloperidol or sodium valproate in naive and anhedonic rats. *Int J Neuropsychopharmacol* 2006; 9: 427-36
37. Orsetti M, Canonico PL, Dellarole A, Colella L, Di Brisco F, Ghi P. Quetiapine prevents anhedonia induced by acute or chronic stress. *Neuropsychopharmacology*. 2007; 32: 1783-90
38. Gefvert O, Lundberg T, Wieselgren IM, Bergström M, Långström B, Wiesel F et al. D(2) and 5HT(2A) receptor occupancy of different doses of quetiapine in schizophrenia: a PET study. *Eur Neuropsychopharmacol* 2001; 11: 105-10
39. Jensen NH, Rodriguiz RM, Caron MG, Wetsel WC, Rothman RB, Roth BL. N-desalkylquetiapine, a potent norepinephrine reuptake inhibitor and partial 5-HT_{1A} agonist, as a putative mediator of quetiapine's antidepressant activity. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33: 2303-12
40. Guscott M, Bristow LJ, Hadingham K, Rosahl TW, Beer MS, Stanton JA et al. Genetic knockout and pharmacological blockade studies of the 5-HT₇ receptor suggest therapeutic potential in depression. *Neuropharmacology* 2005; 48: 492-502
41. Wang YM, Gainetdinov RR, Fumagalli F, Xu F, Jones SR, Bock CB et al. Knockout of the vesicular monoamine transporter 2 gene results in neonatal death and supersensitivity to cocaine and amphetamine. *Neuron* 1997; 19: 1285-96
42. Fukui M, Rodriguiz RM, Zhou J, Jiang SX, Phillips LE, Caron MG et al. Vmat2 heterozygous mutant mice display a depressive-like phenotype. *J Neurosci* 2007; 27: 10520-9
43. Gizatullin R, Zaboli G, Jonsson EG, Asberg M, Leopardi R. The tryptophan hydroxylase (TPH) 2 gene unlike TPH-1 exhibits no association with stress-induced depression. *J Affect Disord* 2008; 107: 175-9
44. Heils A, Moßner R, Lesch KP. The human serotonin transporter gene polymorphism—basic research and clinical implications. *J Neural Transm* 1997; 104: 1005-14
45. Huang YY, Battistuzzi C, Oquendo MA, Harkavy-Friedman J, Greenhill L, Zalsman G et al. Human 5-HT_{1A} receptor C(-1019)G polymorphism and psychopathology. *Int J Neuropsychopharmacol* 2004; 7: 441-51
46. Serretti A, Macciardi F, Verga M, Cusin C, Pedrini S, Smeraldi E. Tyrosine hydroxylase gene associated with depressive symptomatology in mood disorder. *Am J Med Genet* 1998; 81: 127-30
47. Massat I, Souery D, Del-Favero J, Nothen M, Blackwood D, Muir W et al. Association between COMT (Val158Met) functional polymorphism and early onset in patients with major depressive disorder in a European multicenter genetic association study. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 598-605
48. Inoue K, Itoh K, Yoshida K, Higuchi H, Kamata M, Takahashi H et al. No association of the G1287A polymorphism in the norepinephrine transporter gene and susceptibility to major depressive disorder in a Japanese population. *Biol Pharm Bull* 2007; 30: 1996-8

49. Manki H, Kanba S, Muramatsu T, Higuchi S, Suzuki E, Matsushita S et al. Dopamine D2, D3 and D4 receptor and transporter gene polymorphisms and mood disorders. *J Affect Disord* 1996; 40:7-13
50. Schumacher J, Jamra RA, Becker T, Ohlraun S, Klopp N, Binder EB et al. Evidence for a relationship between genetic variants at the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) locus and major depression. *Biol Psychiatry* 2005; 58: 307-14
51. Paykel ES. Life events and affective disorders. *Acta Psychiatr Scand* 2003; 108: 61-6
52. Hammen C. Stress and depression. *Annu Rev Clin Psychol* 2005; 1: 293-319
53. Orsetti M, Di Brisco F, Rinaldi M, Dallorto D, Ghi P. Some molecular effectors of antidepressant action of quetiapine revealed by DNA microarray in the frontal cortex of anhedonic rats. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 600-12
54. Connor TJ, Leonard BE. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci* 1998; 62: 583-606
55. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann NY Acad Sci* 2001; 933: 222-34
56. Cassano P, Hidalgo A, Burgos V, Adris S, Argibay P. Hippocampal upregulation of the cyclooxygenase-2 gene following neonatal clomipramine treatment (a model of depression). *Pharmacogenomics J* 2006; 6: 381-7
57. Lee YJ, Choi B, Lee EH, Choi KS, Sohn S. Immobilization stress induces cell death through production of reactive oxygen species in the mouse cerebral cortex. *Neurosci Lett* 2006; 392: 27-31
58. Acosta GB, Otero Losada ME, Rubio MC. Area-dependent changes in GABAergic function after acute and chronic cold stress. *Neurosci Lett* 1993; 154: 175-8
59. Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, Behar KL, Hyder F, Petroff OA et al. Reduced cortical gamma aminobutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 1043-7
60. Chertkow Y, Weireb O, Youdim MB, Silver H. The effect of chronic co-administration of fluvoxamine and haloperidol compared to clozapine on the GABA system in the rat frontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol* 2006; 9: 287-96
61. Zink M, Schmitt A, May B, Muller B, Demirakca T, Braus DF et al. Differential effects of long-term treatment with clozapine or haloperidol on GABA-A receptor binding and GAD67 expression. *Schizophr Res* 2004; 66: 151-7
62. Costa E, Davis J, Pesold C, Tueting P, Guidotti A. The heterozygote reeler mouse as a model for the development of a new generation of antipsychotics. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2: 56-62
63. Arinami T, Ohtsuki T, Ishiguro H, Ujike H, Tanaka Y, Morita Y et al. Genomewide high-density SNP linkage analysis of 236 Japanese families supports the existence of schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 1p, 14q and 20p. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 937-44
64. Shirakawa O, Kitamura N, Lin XH, Hashimoto T, Maeda K. Abnormal neurochemical asymmetry in the temporal lobe of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25: 867-77
65. Dwivedi Y, Mondal AC, Rizavi HS, Shukla PK, Pandey GN. Single and repeated stress-induced modulation of phospholipase C catalytic activity and expression: role in LH behavior. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30: 473-83
66. Scheschonka A, Tang Z, Betz H. Sumoylation in neurons: nuclear and synaptic roles? *Trends Neurosci* 2007; 30: 85-91
67. Dorval V, Fraser PE. SUMO on the road to neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 694-706
68. Noble W, Planel E, Zehr C, Olm V, Meyerson J, Suleman F et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 6990-5
69. Watterson JM, Watson DG, Meyer EM, Lenox RH. A role for protein kinase C and its substrates in the action of valproic acid in the brain: implications for neural plasticity. *Brain Res* 2002; 934: 69-80
70. McQuillin A, Rizig M, Gurling HMD. A microarray gene expression study of the molecular pharmacology of lithium carbonate on mouse brain mRNA to understand the neurobiology of mood stabilization and treatment of bipolar affective disorder. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17: 605-17
71. Lemonde S, Turecki G, Bakish D, Du L, Hrdina PD, Bown CD et al. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J Neurosci* 2003; 23: 8788-99