

Neurorozwojowy model zwierzęcy schizofrenii

A neurodevelopmental animal model of schizophrenia

BARBARA K. LIPSKA, DANIEL R. WEINBERGER

Z: Clinical Brain Disorders Branch, IRP, NIMH, Neuroscience Center at St. Elizabeths

STRESZCZENIE. *Przedstawiono interesujący model naśladujący w eksperymencie na szczurach cechy zachowania i przebiegu schizofrenii u ludzi. Istota modelu polega na uszkodzeniu struktur limbicznych we wczesnych okresach życia płodowego, co wiąże go z wieloma przestankami tzw. neurorozwojowej koncepcji patogenezy schizofrenii (red.)*

SUMMARY. *An interesting model is presented, simulating characteristics of human behavior and the course of schizophrenia in man in an experiment on rats. Many assumptions of the so-called neurodevelopmental concept of the pathogenesis of schizophrenia are verified in the model, by means of destruction of limbic structures in early stages of fetal life (Eds.).*

Słowa kluczowe: schizofrenia / patogeneza / model zwierzęcy / koncepcja neurorozwojowa

Key words: schizophrenia / pathogenesis / animal model / neurodevelopmental concept

Zwierzęce modele chorób są szeroko stosowane jako narzędzia w badaniach mechanizmów patofizjologicznych oraz w badaniach nad zwiększeniem skuteczności leczenia. Na ogół uważa się, że modele zwierzęce chorób psychicznych mają ograniczoną wartość. Jedną z przyczyn tego jest fakt, że choroby psychiczne występują wyłącznie u ludzi, zaburzając nastrój, myślenie, postrzeganie i procesy poznawcze i nie można ich odtworzyć u filogenetycznie niższych gatunków. Inną przyczyną jest nasza niepełna wiedza o chorobach psychicznych. Zazwyczaj ani przyczyny, ani mechanizmy neurobiologiczne leżące u podłoża tych chorób nie są znane.

ZAŁOŻENIA

Obserwacja ta wydaje się szczególnie trafna w odniesieniu do schizofrenii, chorobie o nieznannej etiologii i patofizjologii, charakteryzującej się bardzo wyraźnymi zaburzeniami postrzegania i zachowania, jak również uwagi, pamięci i czynności wykonawczych. W związku z wprowadzeniem nowych technologii i

bardziej czułych metod badania czynności mózgu, sytuacja ta ulega zmianie, np. coraz więcej jest dowodów na istnienie strukturalnych nieprawidłowości w mózgach pacjentów chorych na schizofrenię. Zarówno diagnostyka obrazowa, jak i badania neuroanatomiczne wykazują morfometryczne zmiany w korze mózgu chorych [1,2,3,4,13,15,18]. Oprócz nieprawidłowości struktury mózgu, badania obrazowe wskazują na upośledzenie czynności kory i sugerują dezorganizację połączeń korowych przedczołowo-skroniowo-limbicznych, co zgodne jest z doniesieniami o istnieniu uszkodzenia kory [16,17]. Inne obserwacje wskazują na to, że proces chorobowy u pacjentów schizofrenicznych najprawdopodobniej pojawia się we wczesnej fazie życia, być może prenatalnej, i że zmiany w morfologii mózgu nie są postępujące i nie zależą od czasu trwania choroby [5,12]. Ponadto, korzystny wpływ neuroleptyków, które zmniejszają niektóre objawy choroby nasuwa włączenie do rozważań nad schizofrenią - dysfunkcji układu dopaminergicznego.

Ostatecznie więc, wyniki ostatnich badań klinicznych i badań podstawowych sugerują, że schizofrenia łączy się z dyskretnymi nieprawidłowościami rozwojowymi kory przedczołowo-skroniowo-limbiczej i zaburzeniami czynności układu dopaminowego. Te dwa wyraźnie rozbieżne kierunki badań uwzględniliśmy w naszych doświadczeniach nad modelem niektórych aspektów schizofrenii u zwierząt. W dalszej części artykułu pokażemy, że takie podejście do zagadnienia doprowadziło nas do skonstruowania modelu zwierzęcego, odzwierciedlającego z dużą zbieżnością niektóre aspekty schizofrenii. Wykażemy także, że neurorozwojowa hipoteza schizofrenii oparta na nieprawidłowym rozwoju kory mózgowej i zaburzenia w układzie dopaminergicznym towarzyszące początkowi choroby u dorosłych, są z biologicznego punktu widzenia, prawdopodobne.

WCZESNE USZKODZENIE HIPOKAMPA

Spróbaliśmy modelować niektóre aspekty schizofrenii u szczurów poprzez odtworzenie tego, co jest prawdopodobnie pierwotnym defektem w tej chorobie, tj. uszkodzenie okolicy kory w okresie rozwoju mózgu. Wyszliśmy hipotezę, że ten pierwotny defekt może wywoływać efekty wtórne, analogiczne do obserwowanych w schizofrenii, obejmujące rozregulowanie układu dopaminowego i zaburzenie czynności płatów czołowych. Wybraliśmy strukturę hipokampa jako właściwy obszar do wywołania tego uszkodzenia. Hipokamp wydaje się być okolicą, w której najczęściej wytwarzają się zmiany anatomopatologiczne spotykane u pacjentów ze schizofrenią [1,4,13,18]. Okolica hipokampa stanowi jednakże dużą część mózgu szczura i jest anatomicznie i czynnościowo heterogenna. Wyniki badań anatomicznych pozwalają przyjąć, że *ventral hippocampus (VH)* może mieć zasadnicze znaczenie dla regulacji mezolimbicznego układu dopaminowego. Nieprawidłowa czynność tego układu jest silnie wyrażona w

schizofrenii. Ponadto VH jest częścią struktury hipokampa u szczura, która anatomicznie odpowiada przedniemu hipokampowi człowieka, miejscu strukturalnej patologii u pacjentów chorych na schizofrenię.

Chociaż objawy psychotyczne schizofrenii pojawiają się w okresie dojrzewania, niektóre badania sugerują, że choroba powstaje w wyniku zakłócenia rozwoju układu nerwowego, prawdopodobnie w macicy, w czasie drugiego trymestru ciąży. Ten okres rozwojowy uważa się za krytyczny dla migracji i umiejscawiania się "młodych" neuronów we właściwych obszarach korowych.

W przeciwieństwie do naczelnych, u szczurów znaczny rozwój mózgu następuje po urodzeniu. Przeto, biorąc pod uwagę podobieństwo etapu rozwoju układu nerwowego, pierwszy lub drugi tydzień życia szczura odpowiada szacunkowo późnemu okresowi drugiego trymestru ciąży człowieka. W związku z tym wybraliśmy siódmy dzień po urodzeniu (PD7) dla wywołania toksycznego uszkodzenia VH u szczura.

Uważa się, że skutki wczesnego uszkodzenia mózgu różnią się między sobą w zależności od wieku, w którym to uszkodzenie powstało. Opierając się na badaniach wskazujących na to, że zdolność kompensowania utraconej funkcji maleje wraz z wiekiem, wysunęliśmy hipotezę, że wczesne uszkodzenie VH (PD3 lub PD7) spowoduje lżejsze odchylenia, prawdopodobnie o innym obrazie zmian, niż podobne uszkodzenie, które nastąpiłoby później (PD14) lub w okresie dojrzalności.

Doświadczalne uszkodzenie VH u nowonarodzonego szczura wywoływano kwasem ibotenowym, który jest pobudzającą neurotoksyną posiadającą prawdopodobnie właściwości oszczędzające aksony. Badania z użyciem mikroskopu elektronowego wskazują jednakże na to, że kwas ibotenowy może powodować bardziej uogólnioną zmiany, w tym naruszenie przynajmniej zewnętrznej osłonki mielinowej aksonu. Ponadto, obserwowana zazwyczaj w miejscu uszkodzenia jamistość,

wskazuje również na możliwość uszkodzenia aksonów. Jednak stosowanie kwasu ibotowego jest znacznie mniej destrukcyjne niż metody chirurgiczne i elektrolityczne.

REZULTATY

Uszkodzenie wczesne (PD7)

Uszkodzenie *ventral hippocampus* dokonane u szczurów 7 dnia po urodzeniu (PD7) powoduje charakterystyczne zaburzenia produkcji dopaminy (DA), co odzwierciedla się we wzorcu zachowania [6,9,10].

Szczury z wczesnym uszkodzeniem VH, badane przed okresem dojrzewania (PD35), nie wykazywały nieprawidłowego zachowania zależnego od układu DA. Np. takie testy jak: ruchliwość w nowej sytuacji, po wstrzyknięciu soli fizjologicznej, amfetaminy lub przy stresie spowodowanym przez wymuszone pływanie wypadały podobnie u szczurów badanych i u szczurów w grupie kontrolnej. Ponadto, katalepsja po podaniu haloperydolu, stereotypie wywołane amfetaminą, test powtórnego bodźca (*prepulse inhibition of startle, PPI*) nie różniły badanych szczurów od szczurów kontrolnych.

Pomimo wczesnego uszkodzenia mózgu, szczury zachowały początkowo względnie dobre funkcjonowanie. Jednakże ulegało ono zakłóceniu w okresie dojrzewania. Po pokwitaniu (PD56) zwierzęta z lezją VH wykazywały znacznie zwiększoną ruchliwość w nowych sytuacjach, przy stresie wywołanym pływaniem i po otrzymaniu w iniekcji soli fizjologicznej lub amfetaminy (1,5 mg/kg i.p.).

Uważa się, że zmiany behawioralne wiążą się z nasiloną transmisją dopaminy w układzie mezolimbicznym. Szczury badane w 56 dniu życia (PD56) prawdopodobnie reagują nadmiernie na zabiegi przeprowadzane w części postsynaptycznej układu DA prądkowia. Np. w PD56 u zwierząt obserwuje się osłabienie katalepsji wywołanej haloperydolem (1 mg/1 kg i.p.) i nasilenie stereotypii apomorfino-wej (0.75 mg/kg s.c.). Ponadto, przewlekłe stoso-

wanie haloperydolu (0.1 mg/kg i.p.) lub klozapiny (4 mg/kg i.p.) u uszkodzonych zwierząt tłumia wzmożoną aktywność lokomotoryczną po ekspozycji na nowe otoczenie. Świadczy to także o znaczeniu układu DA w powstawaniu nieprawidłowych zachowań.

Szczury uszkodzone po urodzeniu wykazują również obniżenie PPI po okresie dojrzewania. Stwierdzono, że PPI ulega redukcji w PD56 na skutek aktywacji receptora D2 DA i powraca do normy po lekach antydopaminergicznych, co dodatkowo sugeruje nadmierną aktywność układu dopaminergicznego.

Szczury z uszkodzeniem poporodowym badane po okresie dojrzewania wykazywały także osłabienie pamięci operacyjnej i niedostateczne relacje społeczne, co może korespondować z objawami negatywnymi schizofrenii.

Ostatnio stwierdziliśmy, że poporodowe uszkodzenie VH dramatycznie upośledza wykonywanie przez dorosłe szczury testu naprzemiennego wyboru (*alternation test*) [Verma, Lipska, Weinberger, Moghaddam]. Większość tych uszkodzonych szczurów nie potrafiła nauczyć się zadania, a te nieliczne zwierzęta, które spełniały kryterium 80% poprawnych wyborów, potrzebowały znacznie dłuższego czasu do opanowania zadania niż szczury z grupy kontrolnej. Wydaje się interesujące, że szczury z analogicznymi uszkodzeniami, powstałymi w wieku dojrzalym, prawidłowo wykonywały ten test; sugeruje to, że tylko uszkodzenia wczesne wpływają na najważniejszą dla pamięci operacyjnej okolicę mózgu, tj. środkową korę przedczołową.

Badając zachowania społeczne zwierząt z uszkodzeniem poporodowym, stwierdziliśmy u nich znaczne zmniejszenie interakcji społecznych zarówno przed, jak i po okresie dojrzewania. Przewlekłe stosowanie klozapiny nie poprawiało tych zachowań społecznych. Przedstawione wyniki wskazują na to, że wczesne uszkodzenie hipokampa powoduje zaburzenia zachowania przypominające negatywne objawy schizofrenii, takie jak: zaburzenia poznawcze, izolacja społeczna oraz, że deficyty te ujawniają się w stosunkowo

wczesnym okresie rozwoju, tj. przed dojrzewaniem [Sams-Dodd, Lipska, Weinberger; w druku].

Uszkodzenie późne (PD14)

W przeciwieństwie do opóźnionego pojawiania się zaburzeń związanych z poporodowym uszkodzeniem VH, analogiczne uszkodzenie toksyną u szczurów dorosłych w 14 dniu życia (PD14) wywołuje wyraźne zmiany zachowania względnie szybko po zabiegu [7]. Szczury z leżą VH, dokonaną w wieku dorosłym i w 14 dniu życia (PD14) reagują nadmiernie na wstrzyknięcia amfetaminy już po upływie 2 lub 3 tygodni. Ponadto ich reakcja na apomorfinę jest jakościowo różna od reakcji szczurów z wczesną leżą, tzn. szczury poddane zabiegowi w 14 dniu życia (PD14) wykazują raczej obniżone niż nasilone zachowania stereotypowe po podaniu apomorfiny. W odróżnieniu od szczurów z leżą poporodową, ich zachowanie w teście pamięci operacyjnej nie jest zakłócone.

W teście powtórnego bodźca (PPI) szczury uszkodzone w wieku dojrzałym różnią się od szczurów, u których uszkodzenie nastąpiło we wczesnym okresie życia [14]. U szczurów uszkodzonych w wieku dorosłym zmienia się tylko reakcja na apomorfinę, zaś reakcja na wstrzyknięcie soli fizjologicznej jest taka sama jak u zwierząt z grupy kontrolnej.

Podsumowanie wyników badań pozwala stwierdzić, że zmiany zachowania szczurów powstałe w wyniku uszkodzenia w późniejszym okresie życia (PD14) lub w okresie dojrzałości różnią się od zmian spowodowanych podobnym uszkodzeniem we wczesnym okresie życia. Niektóre zaburzenia zachowania związane z poporodowym uszkodzeniem hipokampa i odpowiadające pozytywnym objawom schizofrenii pozostają utajone aż do późniejszego okresu rozwoju, podczas gdy inne zaburzenia, tj. te które odpowiadają objawom negatywnym ujawniają się wcześniej. Obraz zmian zależy od wieku, w którym powstało uszkodzenie.

CZYNNIKI GENETYCZNE

Istnieją dane o genetycznej skłonności do występowania schizofrenii. W naszym modelu zwierzęcym badaliśmy czynniki genetyczne, które mogą zmieniać wrażliwość na skutki wczesnego uszkodzenia VH, w hodowanych wosobnie rasach szczurów: Sprague-Dawley, Fisher 344 i Lewis. Szczury te poddawano różnym wczesnym uszkodzeniom VH: dużym i małym.

Stwierdziliśmy, że zaburzenia zachowania były zależne od rasy i stopnia uszkodzenia. Szczury Sprague-Dawley wykazywały, opisaną poprzednio, wzmoczoną aktywność lokomotoryjną wywołaną nowym otoczeniem lub podaniem amfetaminy, tylko po okresie dojrzewania (PD56). Małe uszkodzenia u tych szczurów nie powodowały żadnych zmian, niezależnie od wieku. U szczurów Fishera 344 wzmoczona ruchliwość ujawniała się wcześniej (PD35) i wzmagala się w PD56. Małe uszkodzenia u tych szczurów powodowały wzorce zachowań analogiczne do wzorców u szczurów Sprague-Dawley, tj. wystąpienie nadmiernej ruchliwości po okresie dojrzewania.

W odróżnieniu od poprzednich, szczury Lewisa były stosunkowo odporne na uszkodzenie VH. Wyniki te wskazują na to, że zasięg uszkodzenia hipokampa i predyspozycje genetyczne współdziałają w tworzeniu poszczególnych wzorców zachowań.

WNIOSKI

1. Toksyczne uszkodzenie układu nerwowego szczurów w okresie rozwojowym potraktowaliśmy jako model odpowiadający niektórym aspektom schizofrenii. Badaliśmy podobieństwo tej występującej u ludzi choroby i naszego modelu w zakresie: nieprawidłowości rozwoju strukturalnego hipokampa, występowania objawów w okresie pokwitania, dysregulacji przewodnictwa dopaminy w układzie limbicznym, zakłócenia czynności kory czołowej, upośledzenia re-

akcji na bodźce czuciowo-ruchowe i wrażliwość wobec stresu.

2. Dane genetyczne zwiększają zasięg tego modelu wskazując na możliwość współdziałania czynników środowiskowych i pre dyspozycji genetycznych.
3. Model ten może wyjaśniać także inne fakty kliniczne związane z tą chorobą, takie jak międzyosobnicze różnice w nasileniu objawów i wieku ich wystąpienia.
4. Warto jednak podkreślić, że choć model wczesnego uszkodzenia hipokampa zdaje się mieć więcej cech zbliżonych do schizofrenii niż inne modele zwierzęce, jednak, mimo to, posiada także ograniczenia. Choć może okazać się użyteczny w wyjaśnianiu niektórych aspektów schizofrenii, jednak pozostaje tylko modelem i z definicji pozostaje w najlepszym przypadku tylko uproszczoną wersją rzeczywistości.

Tłumaczenie: dr Krystyna Nurowska

PIŚMIENNICTWO

1. Akbarian S., Vinuela A., Kim J.J., Potkin S.G., Bunney W.E. Jr, Jones E.G.: Distorted distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase neurons in temporal lobe of schizophrenics implies anomalous cortical development. *Arch. Gen. Psychiatry* 1993, 50, 178-187.
2. Arnold S.E., Hyman B.T., van Hoesen G.W., Damasio A.R.: Some cytoarchitectural abnormalities of the entorhinal cortex in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 1991, 48, 625-632.
3. Benes F.M., McSparren J., Bird E.D., San Giovanni J.P., Vincent S.L.: Deficits in small interneurons in prefrontal and cingulate cortices of schizophrenic and schizoaffective patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 1991, 48, 996-1001.
4. Jakob H., Beckman H.: Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics. *J. Neural. Transm.* 1986, 65, 303-326.
5. Jaskiw G.E., Juliano D.M., Goldberg T.E., Hertzman M., Urow-Hammel E., Weinberger D.R.: Cerebral ventricular enlargement in schizophreniform disorder does not progress. A seven year follow-up study. *Schiz. Res.* 1994, 14, 23-28.
6. Lipska B.K., Jaskiw G.E., Weinberger D.R.: Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal hippocampal damage: A potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1993, 9, 67-75.
7. Lipska B.K., Jaskiw G.E., Braun A.R., Weinberger D.R.: Prefrontal cortical and hippocampal modulation of haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat. *Biol. Psychiatry* 1995, 38, 255-262.
8. Lipska B.K., Swerdlow N.R., Geyer M.A., Jaskiw G.E., Braff D.L., Weinberger D.R.: Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes postpubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacology* 1995, 122, 35-43.
9. Lipska B.K., Weinberger D.R.: Delayed effects of neonatal hippocampal damage on haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat. *Dev. Brain Res.* 1993, 75, 213-222.
10. Lipska B.K., Weinberger D.R.: Subchronic treatment with haloperidol or clozapine in rats with neonatal excitotoxic hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* 1994, 10, 199-205.
11. Lipska B.K., Weinberger D.R.: Genetic variation in vulnerability to the behavioral effects of neonatal hippocampal damage in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995, 92, 8906-8910.
12. Marsh L., Suddath R.L., Higgins N., Weinberger D.R.: Medial temporal lobe structures in schizophrenia; relationship of size to duration of illness. *Schiz. Res.* 1994, 11, 225-238.
13. Suddath R.L., Casanova M., Goldberg T., Daniel D., Kelsoe J., Weinberger D.R.: Temporal lobe pathology in schizophrenia: A quantitative MRI study. *Am. J. Psychiatry* 1989, 146, 464-472.
14. Swerdlow N.R., Lipska B.K., Weinberger D.R., Braff D.L., Jaskiw G.E., Geyer M.A.: Increased sensitivity to the sensorimotor gating-disruptive effects of apomorphine after lesions of frontal cortex or hippocampus in adult rats. *Psychopharmacology* 1995, 122, 27-34.
15. Weinberger D.R., DeLisi L.E., Neophytides A.N., Wyatt R.J.: Familial aspects of CT abnormalities in chronic schizophrenic patients. *Psychiat. Res.* 1981, 4, 65-71.
16. Weinberger D.R., Berman K.F., Suddath R., Torrey E.F.: Evidence for dysfunction of a prefrontal-limbic network in schizophrenia. An MRI and rCBF study of discordant monozygotic twins. *Am. J. Psychiatry* 1992, 149, 890-897.
17. Weinberger D.R., Berman K.F., Ostrem J.L., Abidargham A., Torrey E.F.: Disorganization of prefrontal-hippocampal connectivity in schizophrenia: PET studies of discordant MZ twins. *Am. J. Psychiatry Soc. Neurosci. Abstracts* 1993, 19, 7.
18. Zipsky R.B., Lim K.O., Sullivan E.V., Brown B.W., Pfefferbaum A.: Widespread cerebral gray matter volume deficits in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 1992, 49, 195-205.

Adres: Dr Barbara Lipska, Clinical Brain Disorders Branch, IRP, NIMH, Neuroscience Center at St. Elizabeths, Washington DC 20032, USA