



Metody psychofarmakologii doświadczalnej¹

Methods of experimental psychopharmacology

ADAM PŁAŻNIK

Z Zakładu Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPiN w Warszawie
i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej AM w Warszawie

STRESZCZENIE. *W pracy omawiane są założenia teoretyczne stosowane przy konstruowaniu i stosowaniu modeli zaburzeń psychopatologicznych. Należy do nich podobieństwo symptomatologii, mechanizmu i selektywna wrażliwość na działanie odpowiedniej grupy leków psychotropowych. Następnie, przedstawione są najważniejsze modele i testy stosowane dla obrazowania zaburzeń występujących w schizofrenii, depresji i chorobach lękowych i testowania leków przeciwpsychotycznych, przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych. W podsumowaniu podkreślono, że test łagodnego, przewlekłego stresu Willnera-Pappa w największym stopniu oddaje psychopatologię afektywną, a także w najwyższym stopniu dyskryminuje nowe leki o potencjale przeciwdepresyjnym. Dalszy rozwój psychofarmakologii behawioralnej należy widzieć w postępach wiedzy na temat neuronalnych i psychologicznych mechanizmów funkcjonowania mózgu.*

SUMMARY. *Theoretical assumptions used in the development and application of models of psychopathological disorders are discussed in the paper. The assumptions include similarity of symptoms and underlying mechanisms of the disorder, as well as selective sensitivity to an appropriate group of psychotropic drugs. Major models and tests are outlined, serving not only to represent disorders occurring in schizophrenia, depression and anxiety disorders, but also to test antipsychotic, antidepressant and anxiolytic drugs. In conclusion it was emphasized that the Willner-Papp test of mild, chronic stress was found to reflect affective psychopathology most fully, and also to have the greatest discriminative power for new drugs of antidepressant potential. Further development of behavioral psychopharmacology seems to depend on the advancement of knowledge about neuronal and psychological mechanisms of the brain functioning.*

Słowa kluczowe: psychofarmakologia doświadczalna / metodyka
Key words: experimental psychopharmacology / methods

Na pierwszy rzut oka, próby konstruowania zwierzęcych modeli zaburzeń psychicznych mogą wydawać się nierealne. Jak bowiem można modelować na zwierzętach tak skomplikowane i „czysto” ludzkie zaburzenia psychiczne jak urojenia, fobie, halucynacje czy depresja psychiczna? Nie wolno jednak zapominać, że w całym świecie zwierzęcym obowiązują podobne zasady budowy układu nerwowego i występują te same

substancje neuroprzekaznikowe. Kolejne etapy rozwoju ewolucyjnego gatunków charakteryzowały się bądź rozwojem już istniejących struktur lub specjalizacją i stopniowym wyodrębnieniem nowych części układu nerwowego. Przykładem może być pojawienie się małego pola kory asocjacyjnej na granicy kory starej (*archicortex*) i kory dawnej (*paleocortex*) u gadów, przekształconego następnie w nową korę (*neocortex*) u ssaków. Posiadamy nie tylko podobne narządy służące recepcji świata, ale także podobne wzorce reagowania na bodźce, a podstawowe

¹ Wykład na V Konferencji Szkoleniowej Ordynatorów, 25 listopada 1998 r, w CMKP, w Warszawie.

funkcje psychiczne (uczenie, pamięć, procesy wzmocnienia pozytywnego, mechanizmy agresywności, odczuwanie lęku) są wspólne w całej gromadzie ssaków. Na przykład, szczury preferują silnie roztwory cukrów tak samo jak ludzie. Ta cecha, niewątpliwie służąca dzięki preferencji substancji wysokoenergetycznych lepszemu przystosowaniu się w ewolucyjnej walce o przetrwanie, jest często wykorzystywana do modelowania zaburzeń w procesach wzmocnienia pozytywnego (tzn. odczuwania przyjemności) występujących w depresji. Karaluchy (*Blattaria*) szybko uczą się nowych reakcji bezwarunkowych, są więc używane do badania neuroprzekaźnikowych procesów uczenia i pamięci. W latach sześćdziesiątych zaobserwowano interesujący wpływ środków psychodysleptycznych (np. LSD-25) na zaburzenia w budowie sieci przez pająki. Mrówki, z kolei, są bardzo dobrym modelem do analizy neuroprzekaźnikowych podstaw agresji i dominacji. Tak więc są w pełni wystarczające przesłanki do stosowania zwierzęcych modeli do badania nie tylko nowych leków psychotropowych, ale także do modelowania zaburzeń psychicznych. Oczywiście, osoby o bardziej ortodoksyjnym nastawieniu będą twierdzić, że nie jest możliwe modelowanie objawów psychopatologicznych dopóki nie będą poznane mechanizmy ośrodkowe takich fizjologicznych procesów psychicznych, jak: lęk, nienawiść, agresja czy nawet miłość. Jest to jednak nastawienie „maksymalistyczne”, negujące możliwość poznania mechanizmów ośrodkowych leków psychotropowych stosowanych w klinice. Właśnie te zweryfikowane klinicznie leki służą do oceny psychopatologicznych koncepcji zaburzeń psychicznych i modeli chorób psychicznych. Działanie antypsychotyczne haloperidolu, antydepresyjne imipraminy i przeciwłękowe chlordiazepoksydu, jest punktem odniesienia przy ocenie nowych leków psychotropowych i nowych koncepcji teoretycznych.

W psychofarmakologii eksperymentalnej (przedklinicznej) stosuje się więc modelowanie całej gamy zjawisk psychopatologicznych (np. zaburzeń występujących w schi-

zofrenii, depresji, zaburzeniach lękowych), modelowanie niektórych istotnych symptomów, np. anhedonii w depresji, lub też stosowane są testy służące do szybkiej weryfikacji nowych substancji psychotropowych, potencjalnych kandydatów na nowe leki psychotropowe. W dalszym ciągu do weryfikowania tych koncepcji teoretycznych są używane sprawdzone klinicznie leki psychotropowe. Można uważać tę sytuację za słabość psychofarmakologii (wnioskowanie *a posteriori*), jeśli jednak spojrzeć na nią od strony kryterium użytkowego, to należy stwierdzić, że spełnia swoją rolę kwalifikując szereg nowych leków psychotropowych, wprowadzonych ostatnio do terapii. Istnieją trzy podstawowe kryteria służące do oceny trafności modeli psychopatologicznych.

Pierwszym jest podobieństwo mechanizmu zaburzeń psychicznych (trafność teoretyczna, *construct validity*). Jest to niewątpliwie warunek najtrudniejszy do spełnienia, w sytuacji kiedy nie są znane mechanizmy fizjologiczne procesów psychicznych. Niemniej jednak podejmowane są próby modelowania mechanizmów ośrodkowych występujących w chorobach psychicznych. Jako przykład można wymienić występowanie symptomów anhedonii na skutek stosowania chronicznych procedur stresowych, w modelach depresji endogennej [Papp i wsp. 1994].

Kolejnym kryterium jest podobieństwo objawów zaburzeń psychicznych (trafność zewnętrzna, *face validity*) [Danysz i wsp. 1991]. Jest to parametr najłatwiejszy do osiągnięcia, ale często analizowany oddzielnie i mylnie interpretowany jako obrazujący patomechanizm choroby psychicznej. Na przykład, spadek aktywności motorycznej szczurów, osłabienie preferencji picia sacharozy, spadek pozycji w hierarchii stada w kolonii małp występujący pod wpływem różnych bodźców stresowych, jest najprawdopodobniej wynikiem behawioralnej reakcji na silną stymulację awersyjną, a nie efektem prawdziwej psychozy depresyjnej. Badanie mechanizmów poszczególnych symptomów zaburzeń ośrodkowych może

dostarczyć interesujących danych na temat przebiegu procesów psychicznych, trudno jednak o bezpośrednie wnioskowanie co do ich związków z psychopatologią afektywną.

Następnym parametrem jest zdolność stosowanych testów do „rozpoznawania” efektu psychotropowego nowych leków psychotropowych (trafność prognostyczna, *predictive validity*) [Danysz i wsp. 1991]. Jest to bardzo ważne kryterium użytkowe, pozwalające na wybór (*screening*) substancji o najbardziej obiecującym profilu farmakologicznym spośród wielu syntez chemicznych.

Biorąc pod uwagę te kryteria można wyodrębnić trzy podstawowe kierunki rozwoju psychofarmakologii eksperymentalnej:

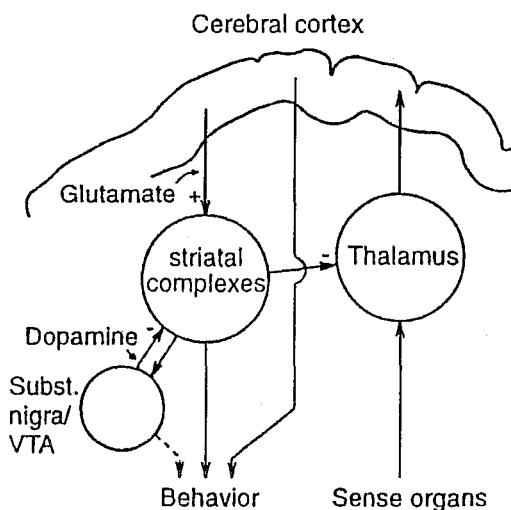
- modelowanie całości obrazu psychopatologicznego
- odwzorowywanie objawów chorób psychicznych
- rozwój testów do wstępnej analizy nowych leków psychotropowych.

Z praktycznego punktu widzenia najważniejsze są dwa kierunki: modele farmakologiczne i psychopatologiczne. Mając na względzie wymienione kryteria i zastrzeżenia, kolejne fragmenty tego opracowania będą poświęcone omówieniu najważniejszych i najpopularniejszych testów stosowanych w psychofarmakologii eksperymentalnej, w podziale na trzy podstawowe grupy zaburzeń psychicznych: zaburzenia schizofreniczne, afektywne i lękowe.

MODELOWANIE ZABURZEŃ WYSTĘPUJĄCYCH W SCHIZOFRENII

Do najciekawszych koncepcji patomechanizmu schizofrenii zaliczyć należy teorię wybitnego psychofarmakologa szwedzkiego Arvida Carlssona [Carlsson i wsp. 1997] (rys. 1). Wg niego przyczyną występowania zaburzeń psychicznych, w tym kojarzenia i percepcji (omamów, halucynacji itp.), jest

przeładowanie informatyczne kory mózgu (wzrokowej, słuchowej, asocjacyjnej). Dzieje się tak na skutek nieprawidłowego funkcjonowania tzw. filtra wzgórzowego. Wzgórze jest miejscem integracji bodźców napływających do kory mózgu drogami wstęgowymi i pozawstęgowymi z narządów percepcyjnych, dostarczając informacji ze świata zewnętrznego i z wnętrza organizmu. Wzgórze jest uważane za filtr przesiewający nadmiar informacji na jej drodze do kory mózgu. Opisany system działa na zasadzie sprzężenia zwrotnego, w którym podstawową rolę pełnią neuroprzekaźniki: dopamina z istoty czarnej i jąder brzuszej części nakrywki, kwas gammaaminomasłowy pochodzący z włókien GABA-ergicznym z zwojów podstawy oraz aminokwasy pobudzające z kory mózgu (rys. 1).



Rysunek 1. Diagram przedstawiający koncepcję Carlssona patomechanizmu schizofrenii. Schemat połączeń neuroprzekaźnikowych między strukturami mózgu istotnych dla rozwoju objawów psychopatologicznych. (-) oznacza wpływ hamujący, a (+) pobudzający. *Cerebral cortex* – kora mózgu, *glutamate* – kwas glutaminowy, *thalamus* – wzgórze, *striatal complexes* – zwoje podstawy mózgu, *dopamine* – dopamina, *subst. nigra/VTA* – układ dopaminergiczny, *sense organs* – organy sensoryczne. Dokładne wyjaśnienia w tekście

Pobudzenie unerwienia GABA-ergicznego wzgórza hamuje przepływ informacji, w ten sposób ograniczając poziom wzbudzenia kory mózgu. Gdy kora mózgu jest nadmiernie aktywowana, pobudzeniu ulegają zstępujące z niej do prążkowiego szlaku neuro-nalne zawierające pobudzający neuroprze-kaźnik, kwas glutaminowy. Wyzwalany w prążkowie kwas glutaminowy stymuluje neurony GABA-ergiczne, a tym samym nasila uwalnianie GABA we wzgórzu i związane z tym hamowanie przewodzenia bodźców czuciowych. Dopamina, z kolei, pełni rolę hamującą wobec neuronów GABA-ergicznym w zwojach podstawy. Nadaktywność układu dopaminergicznego prowadzi więc do otwarcia filtra wzgórzowego i nadmiernego pobudzenia kory mózgu. Opisany model pozwala na wyjaśnienie z jednej strony działania psychotycznego takich środków jak amfetamina i fencyklidyna (PCP, *angel dust*), a z drugiej efektu antypsychotycznego – neuroleptyków. Amfetamina jest aminą sympatykomimetyczną o pośrednim mechanizmie działania, uwalniającą duże ilości dopaminy w mózgu. Fencyklidyna jest natomiast niekompetywnym antagonistą receptorów dla aminokwasów pobudzających (antagonistą tych neuroprze-kaźników) i również uwalnia dopaminę. Amfetamina i fencyklidyna blokują aktywność układu GABA-ergicznego wzgórza powodując silne wzbudzenie kory mózgu bodźcami ekster- i intereceptywnymi. Natomiast neuroleptyki, poprzez bloko-wanie receptorów dopaminergicznym powodują, że neurony GABA-ergiczne zwojów podstawy (aktywowane przez zstępujące szlaki korowo-striatalne) nasilają czynność wzgórzowego filtra. Koncepcja Carl-sona znajduje oparcie w licznych wynikach badań klinicznych i podstawowych. Prze-wlekłe stosowanie amfetaminy u ludzi po-woduje występowanie psychoz paranoidal-nych, przypominających zespoły parano-idealne w przebiegu schizofrenii. Podobnie działa fencyklidyna [Sams-Dodd 1998]. Oba środki stosowane u zwierząt laboratoryj-

nych (szczurów) wywołują objawy pobudze-nia aktywności motorycznej, a następnie stereotypię ruchową i wzmożoną agresywność. Są one filogenetycznymi odpowiedni-kami zachowań kompulsywnych, pobudze-nia psychomotorycznego i wrogości. Przy przewlekłym podawaniu tych związków do-chodzi do pogłębienia zaburzeń zachowa-nia, z postępującą izolacją społeczną w gru-pie, spadkiem pozycji w stadzie. Pamiętając o ryzyku zbyt daleko idącej antropomorfi-zacji można powiedzieć, że amfetamina i fencyklidyna symulują objawy pozytywne i negatywne schizofrenii. Obie substancje są od dawne stosowane do przedklinicznej oce-ny nowych leków antypsychotycznych.

Innym modelem objawów występujących w schizofrenii jest zaburzenie tzw. selektywnej uwagi (*selective attention*) w teście PPI (*pre-puls inhibition*). Niewątpliwie, chorzy na schizofrenię wykazują deficyty procesów poznawczych, a także w koncentracji i sile reakcji na bodźce. Bada się je w tzw. teście wygaszania czynności odruchowej. Wiado-mo, że poprzedzenie bodźca bezwarunko-wego (np. strumień zimnego powietrza kie-rowanego na oko) bodźcem obojętnym (np. sygnałem dźwiękowym) osłabia reakcję bez-warunkową (zamknięcie powiek). To zjawis-ko jest prawdopodobnie wyrazem interfe-rencji dodatkowego impulsu z procesami odpowiedzialnymi za koncentrację na bodź-cu (selektywna uwaga). Chorzy na schizo-frenię wykazują zaburzenie reakcji habitua-cyjnej, podobnie jak zwierzęta, którym po-dano amfetaminę lub fencyklidynę. Wiado-mo z kolei, że leki neuroleptyczne normali-zują opisane zjawisko. Zaburzenia selektywnej uwagi dają się modelować zarówno u ludzi jak i zwierząt i są wykorzystywane do klinicznej oceny nowych leków antypsychotycznych.

Wiele modeli zaburzeń występujących w schizofrenii wywodzi się z koncepcji psy-chofarmakologicznym, a szerzej neurobio-logicznym tej psychozy. Do koncepcji neurorozwojowych zaliczyć należy model Weinbergera i Lipskiej [Lipska i wsp. 1995,

Sams-Dodd i wsp. 1997]. Model ten jest oparty na założeniu, że źródłem objawów psychicznych w schizofrenii są zaburzenia w rozwoju mózgu na skutek działania urazów lub substancji toksycznych w okresie płodowym i w okresie wzrostu organizmu. Powodują one, że dalszy rozwój o.u.n. jest nieprawidłowy szczególnie w zakresie struktur mózgu decydujących o rozwoju emocjonalnym człowieka. W swoim modelu Weinberger i Lipska podają oseskom szczurzym mikroiniekcje neurotoksyny, kwasu kainowego, do brzusznej części hipokampów. Kwas kainowy uszkadza neurony w miejscu podania, pozostawia natomiast nieuszkodzone aksony i inne włókna nerwowe. Bardzo istotne jest stwierdzenie, że wpływ neurotoksyny ujawnia się dopiero po osiągnięciu przez szczury dojrzałości. Zaburzenia przybierają postać wzmożonej aktywności motorycznej, nadmiernej reaktywności na bodźce (odhamowanie behawioralne) oraz spadku pozycji w hierarchii stada i osłabieniu tzw. interakcji socjalnej. Ten ostatni parametr bada się przez zliczanie liczby kontaktów (węszenie, wspólna „zabawa”, przebywanie w bezpośredniej bliskości) dwóch zwierząt z obcych kolonii. Wg tej koncepcji osłabienie lub zniesienie interakcji socjalnej modeluje objawy negatywne schizofrenii. Pomijając trudny do oceny problem nadmiernej antropomorfizacji zachowań społecznych szczurów faktem jest, że leki neuroleptyczne podawane przewlekłe normalizują opisane zaburzenia zachowania. Działają

tak zarówno leki klasyczne, jak i leki nowej generacji, w tym klozapina i risperydon. Warto podkreślić, że model Weinbergera i Lipskiej, w przeciwieństwie do efektów amfetaminy i fencyklidyny, pozwala na różnicowanie działania leków neuroleptycznych stosowanych krótkotrwale i przewlekłe, co podkreśla jego zgodność z założeniami teoretycznymi i jest przyczyną jego popularności w badaniu nowych leków antypsychotycznych.

Psychofarmakologia eksperymentalna dysponuje znacznie większą liczbą modeli zaburzeń występujących w psychozach schizofrenicznych, wydaje się jednak, że opisane koncepcje i modele w najbardziej przybliżony sposób odwzorowują obraz psychopatologiczny tej choroby, a także spełniają warunek „rozpoznawania” efektu terapeutycznego nowych leków (*predictive validity*).

MODELOWANIE ZABURZEŃ WYSTĘPUJĄCYCH W DEPRESJI

Większość modeli i testów stosowana do badania zaburzeń afektywnych i leków przeciwdepresyjnych opiera się na analizie ośrodkowych efektów bodźców stresowych (tabl. 1). Są więc one pochodną koncepcji podkreślającej rolę czynników stresowych (w tym towarzyszących codziennemu życiu), w ujawnianiu uwarunkowanej genetycznie psychopatologii u ludzi. Z tego punktu widzenia, towarzyszące im zaburzenia bardziej odpowiadają kategorii depresji reaktywnej.

Tablica 1. Najważniejsze modele zaburzeń afektywnych stosowane dla oceny przedklinicznej leków przeciwdepresyjnych

1. Model Porsolta (immobilizacji)
2. Model łagodnego chronicznego stresu Willnera i Pappa
3. Model wyuczony bezradności (*learned helplessness*)
4. Model hamowania reakcji samodrażnienia bocznego podwzgórza lub samopodawania amfetaminy lub kokainy przez silne bodźce stresujące
5. Model nadaktywności po usunięciu opuszek węchowych
6. Model wieloprzebiegowych zaburzeń w strukturach limbicznych w depresji
7. Model rezerpinowo- α MPT
8. Model izolacji socjalnej małp

Najbardziej popularnym testem z tej grupy jest model tzw. „wymuszonego” pływania (*forced swim test*), zwany także od nazwiska wynalazcy testem Porsolta [Porsolt i wsp. 1997]. Test ten polega na obserwowaniu zachowania gryzoni, szczurów lub myszy, włożonych do zbiornika wypełnionego wodą, z którego zwierzęta nie mogą się wydostać. Zwierzęta na początku testu zachowują się bardzo aktywnie, starając się uciec z sytuacji stanowiącej bezpośrednie zagrożenie ich życia. Zwykle po kilku minutach dochodzi do fazy rezygnacji i szczury w wyniku braku powodzenia prób ucieczki rezygnują z dalszych wysiłków. Pomiar czasu zniemczenia (*immobility*) jest parametrem mierzonym w tym teście. Uważa się, że faza zahamowania aktywności jest wynikiem silnych zaburzeń emocjonalnych, wzmożonego lęku i obniżonego nastroju (wyuczona bezradność). Natomiast nie jest efektem wyczerpania fizycznego i zaburzeń aktywności motorycznej. Najistotniejszym walorem tego testu jest jego „wrażliwość” na działanie leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania, w tym leków atypowych. Nie tylko trójpierścienio- we leki przeciwdepresyjne, ale także inhibitory MAO i SSRI w selektywny sposób wydłużają czas pobudzenia zwierząt, pod postacią nasilenia energicznych prób ucieczki. Leki psychostymulujące także pobudzają aktywność gryzoni, jednak dodatkowo przeprowadzone badanie zmian w aktywności lokomotorycznej pozwala na łatwe zróżnicowanie działania leków przeciwdepresyjnych i pobudzających. W tym teście leki przeciwdepresyjne wywołują spadek aktywności lokomotorycznej, a środki psychostymulujące silnie ją pobudzają.

Odmianą opisanego testu jest model zaburzeń zachowania zwierząt w tzw. procedurze wyuczony bezradności (*learned helplessness*). Ten test został najlepiej i najpełniej opisany przez Weissa [Weiss i wsp. 1981]. Polega on na stosowaniu bodźców bólowych (impulsy prądu o umiarkowanym natężeniu) w sposób niemożliwy do przewidzenia i kontrolowania

przez zwierzęta. Zwykle typowy eksperyment tego typu przeprowadza się na 3 grupach szczurów. Pierwsza grupa, zamknięta pojedynczo w małych pojemnikach, jest poddawana drażnieniu bodźcami prądowymi, które jednak mogą być przerwane przez zwierzęta po wykonaniu prostej reakcji instrumentalnej (np. naciśnięciu dźwigni). Druga grupa, sprzężona z pierwszą, jest drażniona dokładnie tak samo często i długo jak pierwsza, ale bez możliwości regulowania impulsami awersyjnymi. Trzecią grupę stanowią zwierzęta kontrolne, nie poddawane procedurze stresowej. Okazało się, że deficyty behawioralne, pod postacią upośledzenia uczenia się reakcji instrumentalnych, występują wyłącznie w grupie drugiej, co jest interpretowane jako efekt zaburzeń kognitywnych i afektywnych w wyniku wytworzenia reakcji wyuczonej bezradności. Podobnie jak w teście Porsolta, tylko leki przeciwdepresyjne podawane wielokrotnie hamowały rozwój defektu zachowania zwierząt. Oba omówione testy są często stosowane jako modele zaburzeń afektywnych, w badaniach podstawowych jak i skryningu nowych leków tymoleptycznych.

Obecnie najczęściej używanym testem dla oceny leków przeciwdepresyjnych jest model Willnera-Pappa, będący twórczym rozwinięciem koncepcji Katza, z początku lat osiemdziesiątych [Papp i wsp. 1994]. Model ten polega na poddawaniu zwierząt (szczurów) przewlekłej, wielotygodniowej procedurze łagodnych stresów (zamiana zwierząt z różnych klatek, wielogodzinne głodzenie i pozabawianie dostępu do wody, łagodny szok elektryczny, silne bodźce akustyczne, światło stroboskopowe itp.). Jednocześnie mierzona jest preferencja picia sacharozy u tych zwierząt, przy założeniu, że stopień tej preferencji koreluje wprost ze stopniem odczuwania przyjemności, a więc jest miarą procesów wzmocnienia pozytywnego. Wykazano, że zastosowana procedura łagodnego stresu powoduje stopniowe i wyraźne obniżenie preferencji sacharozy, co najprawdopodobniej jest wynikiem wywołania stanu anhedonii. Istnieje już bardzo bogata literatura analizująca

różne aspekty behawioralne i biochemiczne tego modelu [Danyś i wsp. 1991]. Taki przebieg, łagodny stres (*chronic, mild stress procedure*) wywołuje szereg symptomów przypominających zaburzenia w funkcjonowaniu pacjentów chorych na depresję endogenną. I tak, zwierzęta poddane temu testowi gorzej się uczą i pamiętają, mają podwyższony poziom kortykosteroidów w surowicy i obniżoną aktywność mechanizmów immunologicznych organizmu, są mniej aktywne seksualnie, zajmują niskie piętra w hierarchii społecznej. Z przebadanych kilkudziesięciu substancji psychoaktywnych, praktycznie tylko leki przeciwdepresyjne, w tym atypowe, selektywnie znoszą behawioralne i biochemiczne efekty stresu. Warte podkreślenia jest także to, że działanie leków rozwija się w pełni dopiero po kilku tygodniach stosowania, co znajduje odniesienie w sytuacji klinicznej. Test Willnera-Pappa w najwyższym stopniu spełnia trzy wymienione na początku kryteria idealnego modelu psychopatologicznego. Nie jest jednak wolny od krytyki, np. ostatnio pojawiło się szereg prac sugerujących, że deficyt preferencji sacharozy nie jest wynikiem anhedonii, ale koreluje z współtowarzyszącym stresowi spadkiem masy szczurów, jest więc pochodzenia fizjologicznego a nie psychologicznego [Harris i wsp. 1998]. Niemniej jednak nie budzi wątpliwości jego moc predykcyjna w wykrywaniu profilu psychotropowego nowych leków przeciwdepresyjnych.

Kolejnymi testami, rzadziej stosowanymi ze względu na trudności techniczne, są modele zaburzeń reakcji samodrażnienia i samopodawania substancji euforyzujących (amfetaminy, kokainy) na tle silnych bodźców stresowych [Jesberger i Richardson 1985]. Od lat pięćdziesiątych wiadomo, że szczury i inne zwierzęta mogą samodzielnie wykonywać reakcje drażnienia słabymi prądami elektrycznymi struktur mózgowych zawierających duże ilości dopaminy. Źródłem tej reakcji jest uwalnianie przez prąd małych porcji dopaminy o silnym wpływie euforyzującym. Przeprowadzone eksperymenty pokazywały zwie-

rzęta naciskające aż do wyczerpania dźwigni wyzwalając bodziec prądowy drażniący przez uprzednio zaimplantowaną elektrodę okolice bocznego podwzgórza, jądra migdałowe lub jądra brzusznej nakrywki. Podobnie łatwo można nauczyć zwierzęta naciskania dźwigni w celu samopodawania (przez zaimplantowany do żyły cewnik) małych ilości amfetaminy lub kokainy. Te silnie umotywowane reakcje, bezpośrednio związane z efektem euforyzującym obu substancji są silnie hamowane przez różne bodźce stresujące. Stwierdzono, że leki przeciwdepresyjne znoszą opisany wpływ bodźców lękowych i bólowych, potwierdzając tym samym udział procesów afektywnych w omawianym modelu behawioralnym.

Spośród bardzo wielu modeli zaburzeń występujących w depresji warto wymienić także testy farmakologiczne, imitujące poszczególne symptomy psychopatologiczne. Np. stosowane przez wiele lat połączenie rezerpiny i alfa-metylo-p-tyrozyny powodowało przez obniżenie poziomu katecholamin w o.u.n. zahamowanie motoryczne, efekt znoszony przez trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne. Test ten był pochodną koncepcji depresji podkreślających rolę niedoczynności ośrodkowych neuronów noradrenergicznych i dopaminergicznych w psychopatologii. Omawiany model stracił na znaczeniu po wprowadzeniu do terapii nowych leków z grupy SSRI, skutecznych klinicznie, ale nieaktywnych w modelu rezerpinowym. Rozwinięciem tego podejścia były próby analizy zmian aktywności różnych systemów neuroprzekaznikowych w strukturach limbicznych mózgu, występujące na tle chronicznego stosowania leków przeciwdepresyjnych. Przy pomocy metody mikroiniekcji podawano do hipokampów i jąder połączone mózgu szczurów agonistów i antagonistów receptorowych serotoniny, noradrenaliny, dopaminy i kwasu gammaaminomasłowego, przed i po przewlekłym stosowaniu leków przeciwdepresyjnych. Mierzono wpływ pobudzenia i hamowania systemów neuroprzekaznikowych na aktywność lokomotoryczną i eksploracyjną zwierząt.

Wykazano, że na tle wielokrotnie podawanych leków przeciwdepresyjnych dochodzi do nasilenia czynności tych układów neuroprzekąźnikowych, które są związane z aktywnością czynności psychomotorycznych mózgu (noradrenalina i dopamina) oraz do osłabienia aktywności tych systemów, które pełnią rolę hamującą (serotonina i kwas gamma-aminomasłowy). W sumie, dochodzi do nasilenia aktywności psychomotorycznej jako efektu potencjalizacji i odhamowania odpowiednich systemów neuroprzekąźnikowych jednocześnie. Sugerowano, że opisany mechanizm może być odpowiedzialny za kliniczne efekty leków przeciwdepresyjnych [Kostowski i Płaźnik 1994].

Do testów neurofizjologicznych, zweryfikowanych farmakologicznie, należą także zaburzenia zachowania szczurów występujące na tle usunięcia opuszek węchowych. Te struktury nerwowe należące anatomicznie do węchomózgowia, pełnią istotną rolę w regulacji zachowania emocjonalnego szczurów. Ich usunięcie wywołuje wzrost agresywności, silne pobudzenia lokomotoryczne oraz wzrost stężenia kortykosteroidów we krwi. Uważa się, że uszkodzenie opuszek węchowych powoduje wsteczne zmiany degeneracyjne w węchomózgowiu (*archicortex*) powodując w konsekwencji opisane efekty behawioralne. Warto podkreślić, że wszystkie zaburzenia są znoszone przez przewlekle podawane leki przeciwdepresyjne. Te obserwacje bezpośrednio wiążą opisany model z psychopatologią afektywną, bowiem leki neuroleptyczne i przeciwłękowe okazały się zupełnie nieskuteczne.

Wyraźne zmiany behawioralne, o podłożu afektywnym, są także wywoływane przez przewlekle izolację małych małp [Jesberger i Richardson 1985]. Izolacja od matek wywołuje syndrom składający się z takich symptomów, jak: zahamowanie rozwoju psychomotorycznego, wzrost agresywności, spadek pozycji w hierarchii stada, wzrost poziomu kortykosteroidów we krwi. Wszystkie opisane zaburzenia są znoszone przez imipraminę i inne leki przeciwdepresyjne. Wydaje się, że model izo-

lacji osesków małp jest najbliższy psychopatologii ludzkiej, jednak szansę jego szerszego stosowania ocenić należy jako małą, ze względu na koszty i zastrzeżenia natury etycznej.

MODELOWANIE ZABURZEŃ WYSTĘPUJĄCYCH W ZABURZENIACH LĘKOWYCH

Testy służące do oceny działania przeciwłękowego są najprostsze do wymyślenia i skonstruowania. Przede wszystkim dlatego, że reakcje lękowe są filogenetycznie najstarsze i jako podstawowy rodzaj interakcji organizmów z otoczeniem przebiegają wedle podobnych zasad. Dowodem na to jest podobna skuteczność pochodnych benzodiazepiny wśród wszystkich ssaków. Receptory benzodiazepinowe występują już w mózgach ryb chrzęstnoszkieletowych. Testy stosowane dla oceny zachowania lękowego i działania leków przeciwłękowych można podzielić na następujące kategorie: modele badające zachowanie nieuwarunkowane zwierząt, testy z wykorzystaniem reakcji warunkowych, testy z zastosowaniem stymulacji farmakologicznej oraz metody elektrofizjologiczne (tabl. 2).

Modele nieuwarunkowanego zachowania zwierząt

Pierwsza grupa testów opiera się na obserwacji różnego typu zachowania spontanicznego zwierząt, w warunkach zbliżonych do naturalnych, wykorzystując wrodzoną cechę lęku przed nowymi i nieznanymi bodźcami (neofobię) [Belzung i Le Pape 1994]. Klasycznym przykładem takiego podejścia eksperymentalnego jest test otwartego pola. Obok pomiaru aktywności motorycznej, liczone są także takie parametry, jak: liczba wejść do części centralnej i czas przebywanie w tej strefie. Przy pomocy tego testu można więc odróżnić nieselektywne oddziaływanie odhamowujące (w tym aktywność eksploracyjną), od efektów bardziej selektywnie związanych z hamowaniem reakcji neofobii. Odmianą testu otwartego pola jest model tzw. uniesio-

Tablica 2. Najważniejsze modele zaburzeń emocjonalnych

<p>Testy wykorzystujące analizę zachowania nieuwarunkowanego (<i>unconditioned responses</i>)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Test swobodnej eksploracji 2. Test otwartego pola 3. Test uniesionego labiryntu krzyżowego 4. Test zagrzebywania „kulek” lub elektryfikowanego próbnika 5. Test wokalizacji na reakcję na bodziec awersyjny lub separację osesków szczurzych od matek 6. Test hipertermii socjalnej 7. Test interakcji socjalnej 8. Test zachowania agresywnego (<i>intruder test</i>) 9. Test unikania jasno oświetlonego pomieszczenia (<i>light/dark exploration</i>)
<p>Testy wykorzystujące zachowanie wyuczone (<i>conditioned responses</i>)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Test konfliktowy Gellera-Seiftera 2. Test Vogla 3. Test unikania biernego i aktywnego (<i>active/passive avoidance</i>) 4. Odruch „startowy” potęgowany lękiem
<p>Testy chemiczne</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Modele wykorzystujące wpływ pro-lękowy takich substancji, jak pentetrazol
<p>Testy elektrofizjologiczne</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Model panicznej reakcji emocjonalnej występującej na skutek drażnienia elektrycznego istoty szarej okołokanałowej 2. Model „rozniecania” reakcji lękowych na skutek przewlekłego drażnienia jąder ciała migdałowego

nego labiryntu krzyżowego (*elevated plus maze*), bardziej popularny w ostatnich latach [Rodgers i wsp. 1997]. Polega na obserwacji przemieszczania się szczurów lub myszy pomiędzy ramionami zbudowanego na kształt krzyża labiryntu, z dwoma ramionami osłoniętymi wysokimi ściankami i dwoma odsłoniętymi. Test przeprowadza się na stelażu zawieszonym na wysokości kilkudziesięciu cm i w silnie oświetlonym pomieszczeniu dla spotęgowanie efektu awersyjnego. Podobnie jak w teście otwartego pola mierzy się liczbę przejść między ramionami labiryntu, czas przebywania w poszczególnych ramionach itp. Leki przeciwłękowe zwiększają liczbę „wizyt” zwierząt do otwartych ramion labiryntu i czas przebywania w nich.

Odmianą tego testu jest procedura wyboru jasnego lub ciemnego pomieszczenia (*white/dark box discrimination test*). Polega na obserwacji kierunku wyboru i czasu przebywania w zaciemnionej lub jasnej części aparatu przez szczury, zwierzęta mające wrodzoną awersję

do dużych i jasno oświetlonych przestrzeni. Kolejnym testem o podobnej zasadzie jest reakcja zagrzebywania w ściółce kolorowych kulek (*marble burying*) przez myszy. Jest wyrazem silnej neofobii, charakteryzuje się wysoką powtarzalnością a przez policzenie liczby nie zagrzebanych kulek można bardzo łatwo określić siłę działania leków przeciwłękowych. Wynikiem neofobii może także być hipertermia [Bourin 1997]. Ten pomysłowy test wynalazł Borsini, który stwierdził, że kiedy myszki hodowane razem w większych grupach są po kolei wyjmowane i mierzona jest ich temperatura, to zwierzęta wyjmowane na końcu wykazują wyraźną hipertermię, znoszoną przez leki przeciwłękowe.

Innym podejściem eksperymentalnym jest separacja od matek młodych zwierząt, zwykle osesków szczurzych, [Belzung i Le Pape 1994, Bourin 1997, Stefański i wsp. 1994]. Sytuacja taka wywołuje nasiloną wokalizację (emitowane są ultradźwięki), niewątpliwie związaną z silnym pobudzeniem emocjonalnym.

Bardzo popularnym testem w ostatnim okresie jest także model tzw. interakcji społecznej (*social interaction test*) [Belzung i Le Pape 1994, Bourin 1997, Stefański i wsp. 1994]. Polega na badaniu zachowania pary szczurów wziętych z różnych kolonii, w awersyjnych warunkach silnego oświetlenia i w nowym, nieznanym zwierzętom pomieszczeniu. Okazuje się, że szczury w takiej sytuacji są bardzo nieufne wobec siebie. Leki przeciwłękowe w istotny sposób nasilają różnego typu interakcje między nimi (węszczenie, zmniejszenie średniego dystansu itp.). Zaletą opisanych testów jest ich prostota, brak elementów uczenia i pamięci, łatwa interpretacja i kontrola zmiennych (np. aktywności motorycznej) mogących wpływać na wyniki testu i interpretację wyników.

Testy zachowań uwarunkowanych

Chodzi o zachowania uwarunkowane (zinstrumentalizowane) działaniem silnych bodźców emocjonalnych lub bólowych. Interpretacja tej grupy testów jest bardziej skomplikowana, wymaga kontroli niespecyficznego (tzn. nie związanego bezpośrednio z regulacją stanu emocjonalnego) wpływu leków np. na procesy uczenia, pamięci czy poziomu odczuwania bodźców awersyjnych (zmiany w progu bólowym) [Stefański i wsp. 1994]. Np. w teście Gellera-Seiftera lub Vogla bada się zachowanie zwierząt silnie motywowanych pragnieniem lub głodem (poprzez pomiar ilości zjedzonego pokarmu lub wypitej wody), przy jednoczesnym karaniu odpowiedniej reakcji konsumpcyjnej bodźcem awersyjnym (zwykle łagodnym szokiem elektrycznym). Często obserwuje się także wpływ bodźca warunkowego, np. dzwonnka lub światła, na reakcję instrumentalną uprzednio kojarzoną z impulsem bólowym. Zaletą tych testów jest możliwość precyzyjnego manipulowania zachowaniem zwierząt (przez siłę stanu motywacyjnego i bodźca bólowego), a tym samym zmniejszenie międzyosobniczych wahań zachowania, co ma zasadnicze znaczenie przy ocenie statystycznej wyników testu.

Testy z zastosowaniem stymulacji farmakologicznej

Kolejną kategorią modeli zachowań lękowych są testy wykorzystujące wpływ prolektyny niektórych substancji farmakologicznych. Najczęściej są stosowane związki działające antagonistycznie wobec kompleksu receptora GABA/BDZ: pikrotoksyna, pentetrazol. Działają prawdopodobnie przez odhamowanie przebiegu procesów psychicznych i neuronalnych w strukturach limbicznych, takich jak hipokampy czy ciała migdałowe, związanych w powstawaniem reakcji emocjonalnych. Tego rodzaju testy nie są jednak często stosowane, przede wszystkim ze względu na trudność z określeniem optymalnej dawki leku i niskim oknem terapeutycznym, związanym z łatwym wywoływaniem napadu drgawek.

Testy elektrofizjologiczne

Są najtrudniejsze do przeprowadzenia ze względu na komplikacje techniczne. Polegają na drażnieniu elektrycznym, jąder limbicznych mózgu lub istoty szarej około-kanałowej (*periaqueductal gray* – PAG) przez uprzednio zaimplantowane elektrody. W przypadku jąder migdałowych, procedura wymaga wielokrotnego drażnienia, co powoduje drogą tzw. reakcji rozniecania, stopniowe nasilenie reakcji emocjonalnych (lękowych i agresywnych) z jednoczesnym obniżaniem progu drgawkowego. Jednorazowa stymulacja elektryczna PAG wywołuje natomiast bardzo silną reakcję lękową z silnym pobudzeniem motorycznym, wokalizacją, co zdaniem niektórych badaczy modeluje atak lęku panicznego.

Należy podkreślić, że pomimo istnienia teoretycznych podstaw nie przypisano poszczególnych testów na zachowanie lękowe odpowiednim jednostkom chorobowym, przede wszystkim dlatego, że stosowane modele nie pozwalają na zróżnicowanie wpływu przeciwłękowego leków stosowanych w klinice w różnych postaciach zaburzeń lękowych. I tak np. testy posługujące się reakcją neofobii nie wykazują selektywności wobec leków stosowanych w klinice

w leczeniu fobii, reakcja ucieczki wywołana drażnieniem PAG jest hamowana przez bardzo wiele leków przeciwłękowych, różniących się budową i mechanizmem działania.

PODSUMOWANIE

Psychofarmakologia eksperymentalna (przedkliniczna) posługuje się wieloma metodami, interesującymi teoretycznie i pozwalającymi na selektywną ocenę efektu psychotropowych leków. Do najlepszych należy test Willnera-Pappa stosowany do badania działania przeciwdepresyjnego. Szansa dalszego rozwoju psychofarmakologii jest niewątpliwie związana z postępami nauk podstawowych, badającymi różne aspekty funkcjonowania o.u.n. Pozostaje mieć nadzieję, że poznanie mechanizmów powstawania emocji, afektu, agresji, przybliży także moment powstania nowych leków selektywnie i skutecznie działających w chorobach psychicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Belzung C., Le Pape G.: Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety. *Physiol. Behav.* 1994, 56, 623–628.
2. Bourin M.: Animal models of anxiety: are they suitable for predicting drug action in humans? *Pol. J. Pharmacol.* 1997, 49, 79–84.
3. Carlsson A., Hansson L.O., Waters N., Carlsson M.L.: Neurotransmitter aberrations in schizophrenia: new perspectives and therapeutic implications. *Life Sci.* 1997, 61, 75–94.
4. Danysz W., Archer T., Fowler Ch.J.: Screening for new antidepressant compounds. W: Willner P. (red.): *Behavioral Models in Psychopharmacology*. Cambridge University Press 1991, 126–156.
5. Harris R.B.S., Zhou J., Youngblood B.D., Smagin G.N., Ryan D.H.: Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress. *Physiol. Behav.* 1998, 63, 91–100.
6. Jesberger J.A., Richardson J.S.: Animal models of depression: parallels and correlates to severe depression in humans. *Biol. Psychiatry* 1985, 20, 764–784.
7. Kostowski W., Płaźnik A.: An integrative hypothesis of limbic multitransmitteraction of antidepressive treatment. W: Palomo T., Archer T.: *Strategies for studying brain disorders*. Editorial Comlutense, Madrid 1994, 59–68.
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 post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacology* 1995, 122, 35–43.
9. Papp M., Klimek V., Willner P. Effects of imipramine on serotonergic and beta-adrenergic receptor binding in a realistic animal model of depression. *Psychopharmacology* 1994, 114, 309–314.
10. Płaźnik A., Kostowski W., Stefański R.: Limbic mechanisms of anxiolytics acting on 5-HT receptors. *Pol. J. Pharmacol.* 1994, 46, 473–477.
11. Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M.: Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977, 266, 730–732.
12. Rodgers R.J., Cao B.-J., Dalvi A., Holmes A.: Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 1997, 30, 289–304.
13. Sams-Dodd F., Lipska B.K., Weinberger D.R.: Neonatal lesions of the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood. *Psychopharmacology* 1997, 132, 303–310.
14. Sams-Dodd F. A test of the predictive validity of animal models of schizophrenia based on phencyclidine and d-amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 1998, 18, 293–304.
15. Stefański R., Płaźnik A., Nazar M., Jessa M.: Neurofizjologiczne koncepcje powstawania lęku. *Post. Psychiatr. Neurol.* 1994, 3, 1–11.
16. Weiss J.M., Goodman P.A., Losito B.G., Corrigan S., Charry J.M., Bailey W.H.: Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: relationship to norepinephrine, dopamine and serotonin levels in various regions of rat brain. *Brain Res.* 1981, 3, 167–205.