

MODELLI ANIMALI PRECLINICI PER LE PSICOSI

Anna Cattaneo, Catia Scassellati

La psicosi è una condizione per cui una serie di alterazioni comportamentali che riguardano la perdita di contatto con la realtà e la perdita di intuizione si manifestano in un soggetto. Pazienti con diagnosi di psicosi possono presentare uno o più dei seguenti sintomi: allucinazioni, deliri, catatonìa, pensieri disordinati o cognizione sociale compromessa.

I disturbi psicotici sono considerati tra i disturbi mentali più gravi, considerando l'individuo e l'impatto sociale. Questi disturbi, nel 2013, hanno rappresentato l'undicesima causa di disabilità nel mondo. Il lasso di tempo tra la diagnosi e il trattamento varia da 1 a 3 anni e si traduce in un peggioramento degli esiti clinici. Pertanto, l'attenzione clinica si è sempre più spostata verso la diagnosi precoce e su trattamenti efficaci con l'obiettivo non solo di attenuare, posticipare ed evitare il passaggio alla psicosi ma anche di migliorare gli esiti clinici e funzionali della psicosi nel tempo. La schizofrenia è una delle principali psicosi maggiori, caratterizzata da sintomi positivi (deliri, allucinazioni, disturbi del pensiero), negativi (anedonia, avolizione, ritiro sociale, povertà di pensiero) e alterazioni cognitive (funzione esecutiva, problemi di memoria e cognizione sociale). Ad oggi, i meccanismi eziopatogenetici della schizofrenia sono poco chiari e se inizialmente i principali sistemi neurotrasmettitoriali coinvolti erano quelli della dopamina (DA) e del glutammato, successivamente gli studi hanno dimostrato l'implicazione anche di altri sistemi come quello della serotonina (5-HT), dell'acido gamma-amminobutirrico (GABA), della glicina e D-serina e degli steroidi neuroattivi. Ad oggi, la schizofrenia viene sempre più considerata come un disturbo del neurosviluppo.

Sono stati compiuti enormi progressi con l'obiettivo di sviluppare e convalidare modelli animali che replichino le eziologie, le patologie cerebrali e le anomalie comportamentali associate alla psicosi e, in particolare alla schizofrenia, nell'ottica di chiarire sia le origini eziologiche dei vari sintomi sia di sviluppare nuove terapie. Qui vengono descritti diversi modelli preclinici che sono stati implementati per le psicosi, concentrandosi su tre categorie principali: misure elettrofisiologiche e comportamentali e differenti tipi di manipolazioni. L'elettroencefalografia (EEG) è stata la prima tecnica utilizzata per esaminare l'attività del cervello mediante registrazioni del potenziale elettrico. Ad oggi, questa tecnologia si è evoluta sia grazie all'utilizzo di strumentazioni sempre più sensibili, sia grazie all'implementazione di modelli animali specifici come quelli legati ai potenziali evocati evento-correlati (ERP); quelli legati a P300 e quelli legati a *mismatch negativity* (MMN) (Tab. 1.1). Le misure comportamentali sono invece metodi che quantificano e interpretano le azioni di un animale ed i principali modelli animali sono legati a:

1. inibizione latente (LI) (processi attenzionali, sintomi cognitivi);
2. inibizione da preimpulso (PPI) (deficit sensorimotorio);
3. iperattività;
4. risposta condizionata all'evitamento;
5. stereotipia (Tab. 1.1).

Infine, vengono descritti una serie di modelli animali dove vengono eseguite manipolazioni sia farmacologiche che genetiche (Tab. 1.1): è questa la categoria più corposa. Infine, è riportata una breve descrizione di alcuni esempi di modelli ambientali.

TABELLA 1.I. DESCRIZIONE DEI PRINCIPALI MODELLI ANIMALI, LE LORO CARATTERISTICHE E FUNZIONI E I LORO PRINCIPALI VANTAGGI E LIMITAZIONI.

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
Misure elettrofisiologiche	Potenziali evocati evento-correlati (ERP)	Risposte cerebrali oscillatorie innescate da stimoli uditivi, visivi o somatosensoriali. Queste fluttuazioni consentono anche di misurare distinte fasi nell'elaborazione delle informazioni neurali. Riflettono l'elaborazione delle informazioni subcorticali e corticali in tempo reale, fornendo uno strumento utile per lo studio di meccanismi cognitivi.	Rappresentano lo stesso fenomeno in tutte le specie e non sono richieste interpretazioni di "significato o intento". ERP sia nel topo che nell'uomo vengono influenzati in modo simile da specifici trattamenti farmacologici.	
	P300	Deflessione positiva bloccata nel tempo, che emerge da 250 ms a 500 ms dopo lo stimolo. Utilizzato per studiare funzioni attentive.	Buona riproducibilità.	È ancora poco chiaro come tali misure si relazionino ai sintomi clinici.
	<i>Mismatch negativity</i> (MMN)	Risposta elettrofisiologica in un paradigma uditivo stravagante.	Altamente riproducibile. Non si richiedono risposte comportamentali e consente di ottenere attività fisiologiche identiche sia in animali che nell'uomo.	
Misure comportamentali	Inibizione latente (LI)	È un condizionamento in cui gli stimoli precedentemente non rinforzati sono più lenti (meno efficienti) nel generare una risposta condizionata rispetto a stimoli nuovi.	È applicato in molte specie di mammiferi.	No validità predittiva per i sintomi cognitivi.
	Inibizione da pre-impulso (PPI)	Soggetti sono esposti ad un pre-stimolo debole, spesso acustico, seguito da 30-300 ms e poi da uno stimolo più forte. La risposta fisica allo stimolo viene misurata e confrontata con la risposta quando non viene utilizzato il pre-stimolo. Questa differenza fornisce una misura quantitativa dell'inibizione motoria, che viene teoricamente collegata ai meccanismi inibitori neuronali di un soggetto.	È un test ampiamente conservato in tutte le specie di vertebrati: utilizzato nella stessa maniera nei topi, nei ratti e negli esseri umani. Eccellente stabilità. Elevata affidabilità.	Livelli di PPI variano in base al sesso, sia negli esseri umani che nei roditori. I valori di PPI oscillano durante il ciclo mestruale.

Continua

TABELLA 1.1. Segue

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
	Iperattività	Misura comportamentale associata all'agitazione e al comportamento disorganizzato delle psicosi. Si presume che l'attività locomotoria indichi un livello generale di iperattività.		
	Risposta condizionata all'evitamento	Una scarica elettrica nel piede viene accoppiata da uno stimolo condizionato di un tono o di una luce. Ciò determina una risposta di evitamento, in modo che l'animale possa sfuggire allo shock.		No validità del costrutto correlata alle psicosi.
	Stereotipia	Comportamento ripetitivo (leccate ripetitive, masticazione, toelettatura, movimenti della testa, annusare, girare in tondo o arrampicarsi).		
Manipolazioni				
<i>Modelli indotti dal farmaco</i>				
Sistema dopaminergico	Anfetamine	Modello per sintomi psicotici positivi.	Robustezza nelle alterazioni indotte dall'anfetamina nella elaborazione uditiva, comuni a condizioni psicotiche. Altera in modo significativo i valori ERP (P40, P80, N40). Interruzione della normale assuefazione nei ratti.	Non produce in modo affidabile sintomi negativi o cognitivi.
	Apomorfina	Agonista non selettivo della dopamina.	Induce emesi nei cani per le sue proprietà agoniste per la dopamina nel sistema gastrointestinale.	
Sistema glutamatergico	Ketamina	Antagonista NMDA non competitivo.	Come nell'uomo, gli animali trattati con ketamina mostrano caratteristiche comportamentali ed elettrofisiologiche simili alle psicosi.	
	MK-801 (Dizocilpine)	Antagonista NMDA non competitivo.	Induce stereotipie dose-dipendenti nei roditori (movimenti ripetitivi della testa, rotolamento, annusare, marcia indietro, giri in circolo). Induce nei topi aumento dell'attività locomotoria e una riduzione in ERP sensoriali.	

Continua

TABELLA 1.1. Segue

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
	Fenilclidina (PC)	Antagonista NMDA non competitivo.	Induce iperattività e ridotto PPI in animali. Induce stereotipie nei roditori (annusare, allevare, imbavagliare, tessere, marcia indietro, toelettatura, ricerca stereotipata, cerchi e movimenti ripetitivi della testa).	
Sistema serotoninergico	2,5-dimetossi-4-iodoanfetamina (DOI)	agonista del recettore 5HT 2A.	Induce contrazioni alla testa nei topi, con buona validità predittiva per psicosi e allucinazioni.	
	Dimetiltriptamina (DMT)	agonista del recettore 5HT 2A	Induce sintomi positivi di psicosi.	
<i>Modelli genetici</i>				
Sistema dopaminergico	<i>Disrupted in schizophrenia 1</i> (DISC1)	Sviluppo neuronale, regolazione plasticità sinaptica.	Ottimo modello.	
	Disbindina	Regolazione dell'esocitosi, biogenesi delle vescicole, processi coinvolti nella trasmissione sinaptica eccitatoria.	Induce iperattività, deficit di apprendimento e memoria, comportamenti impulsivi e compulsivi, interruzione nella trasmissione dopamina/D2, alterata eccitabilità neuronale.	
	Catecol-O-metiltrasferasi (COMT)	Enzima che degrada le catecolamine	Mostra coerenza con i dati umani per una diminuzione dell'ampiezza dell'ERP e una riduzione di theta e gamma.	
	G α	Isoforma della subunità della proteina G implicata nei segnali di trasduzione del segnale.	Mostra una ridotta ampiezza di N40 generato a livello corticale, coerente con un endofenotipo di schizofrenia.	
Sistema glutamatergico	Neuregulina-1 (NRG1) ed il suo recettore ErbB4	Ligando di recettori transmembrana espressi sulla superficie cellulare per l'attivazione di specifiche vie di trasduzione intracellulare. È coinvolta nei meccanismi di crescita e differenziamento cellulare.	Topi ipomorfici vitali hanno un fenotipo comportamentale che esprime elevata attività ed esplorazione. Hanno anche alterazioni nella memoria di lavoro. Questi topi hanno un numero significativamente inferiore di recettori NMDA funzionali rispetto ai topi <i>wild-type</i> e hanno una ridotta densità dendritica dei neuroni piramidali dell'ippocampo.	
	NR1	Subunità del recettore NMDA.	I topi ipomorfi NR1 esprimono dal 5% al 10% della normale proteina NR1. Presentano anomalie comportamentali associate a schizofrenia e psicosi. Ottimo modello.	

Continua

TABELLA 1.I. Segue

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
Sistema GABAergico	GAT1	È un acido gamma-amminobutirrico trasportatore (GABA), che rimuove GABA dallo spazio sinaptico.	I topi mostrano comportamenti di iperattività, maggiore sensibilità ai farmaci psicomimetici, risposte esagerate a nuovi stimoli, compromissione nel riconoscimento di nuovi oggetti e riduzioni in PPI e LI.	
	Glutamato decarbossilasi 67	Enzima responsabile della conversione del glutammato in GABA nei topi.	Fenotipo simile alla schizofrenia.	
	Bicucullina	Antagonista del recettore GABA-A.	Microiniettata nella corteccia prefrontale dei roditori, determina alterazioni nei processi attenzionali, memoria di lavoro, velocità di elaborazione, alterazioni cognitive, nelle emozioni e nell'attività locomotoria, coerenti con un fenotipo schizofrenico.	
Sistema serotoninergico	5-HT1A	Recettore della serotonina.	I topi hanno maggiore attività locomotoria indotta dall'anfetamina.	No alterazioni in PPI, quindi poco pertinente come modello per le psicosi.
	SERT	Trasportatore della serotonina.	La compromissione della funzione SERT porta ad un potenziale aumento della serotonina nello spazio sinaptico, producendo sintomi psicotici.	Necessari ulteriori studi per dimostrare se questo modello può essere correlato alle psicosi.
Plasticità sinaptica	Relina	Coinvolta nella plasticità sinaptica e nei processi del neurosviluppo.	La delezione produce un topo mutante eterozigote con patologia simile alla schizofrenia (alterazioni neuronali e riduzioni dendritiche nella corteccia frontale e nell'ippocampo).	Controversia sulla rilevanza comportamentale di questo modello per la schizofrenia, con risultati variabili negli studi riguardanti l'interazione sociale, deficit cognitivi, risposta locomotoria e PPI.
Altri modelli	Varianti nel numero di copie (CNVs).	22q11.2 (del), 15q13.3 (del), 1q21 (del), 1q21 (dup), NRXN1 (del), 3q29 (del), 7q11.23 (dup) e 16p11.2 (dup) sono implicati nella schizofrenia.	Cinque di questi CNV sono stati modellati su animali, principalmente topi, ma anche ratti, mosche e zebrafish, e hanno dimostrato di riassumere gli aspetti comportamentali ed elettrofisiologici della schizofrenia.	

Continua

TABELLA 1.I. Segue

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
	22q11.2	Delezione 22q11.2.	<p>I modelli riassumono i principali aspetti neuroanatomici osservati nei portatori di delezione 22q11.2, con alterazioni nei volumi di materia grigia corticale e subcorticale, ventricoli allargati e ridotta dimensione e complessità dendritica.</p> <p>Studi comportamentali su topi con microdelezioni 22q11.2 rivelano deficit di PPI, condizionamento alla paura, alterazioni nella memoria e nell'apprendimento spaziale (deficit nell'eseguire il test DNMP: <i>delayed non-matching to position</i>).</p>	
<i>Modelli di neurosviluppo</i>				
Modello metilazossimetanolo acetato (MAM)	MAM	Mitotossina è agente alchilante del DNA.	Le alterazioni nella prole MAM comprendono la diminuzione del volume della corteccia prefrontale mediale, dei marcatori degli interneuroni della parvalbumina nelle aree limbiche e corticali, dell'interazione sociale e di PPI oltre all'aumento del volume dei ventricoli laterali, dell'attività dei neuroni della dopamina nell'area tegmentale ventrale e della risposta locomotoria all'anfetamina e all'MK- 801, compromissione della memoria e aumento dell'ansia.	
Lesione ippocampale ventrale neonatale (nHVL)	nHVL	Lesione dell'ippocampo ventrale (vHPC), equivalente all'ippocampo anteriore nell'uomo, in ratti neonatali.	I topi mostrano riduzioni degli interneuroni GABAergici che esprimono la parvalbumina e un'alterata risposta agli agonisti e agli antagonisti del glutammato.	<p>La lesione della vHPC è un metodo di dissezione limitato sia spazialmente che temporalmente e può portare ad ulteriori alterazioni comportamentali (cambiamenti nelle funzioni immunitarie).</p> <p>I risultati dipendono anche dalla scelta del tipo di tossine usate per provocare la lesione.</p>

Continua

TABELLA 1.1. Segue

Modelli	Caratteristiche/ funzioni	Descrizione del modello	Vantaggi	Limitazioni
Attivazione immunitaria materna (MIA)	MIA	MIA causata da un'infezione gestazionale aumenta il rischio di sviluppare la schizofrenia nella vita adulta, soprattutto quando l'infezione si verifica durante la fine del primo e l'inizio del secondo trimestre di gravidanza.	I topi mostrano cambiamenti anatomici, neurochimici, elettrofisiologici e comportamentali compatibili con la schizofrenia e altre psicosi. Le alterazioni riguardano anche la produzione di citochine pro-infiammatorie, deficit cognitivi, alterazioni negli interneuroni della parvalbumina nella corteccia prefrontale e nella formazione dell'ippocampo. Elevata validità e potenziale.	Le limitazioni riguardano: tipo specifico di agente patogeno, differenze metodologiche nella dose, vie di somministrazione, tempi gestazionali, scelta delle specie.

MISURE ELETTROFISIOLOGICHE

I principali modelli elettrofisiologici di ERP, P300 e MNM rappresentano ad oggi i modelli più indicati per eseguire studi traslazionali, poiché offrono una serie di importanti vantaggi, che sono riassunti nella [Tabella 1.1](#).

MISURE COMPORTAMENTALI

I modelli comportamentali sono caratterizzati da differenti limitazioni. In particolare, interpretare effettivamente le motivazioni e/o i significati del comportamento animale è piuttosto complicato e difficile. Tuttavia, il modello PPI è ad oggi uno dei migliori, perché caratterizzato da un'eccellente stabilità, riproducibilità ed affidabilità conservate in tutte le specie di vertebrati.

MANIPOLAZIONI

Modelli indotti dal farmaco

I modelli farmacologici di psicosi sono modelli in cui vengono studiati gli effetti che alcuni farmaci inducono sui comportamenti, imitando i sintomi delle psicosi osservati nell'uomo. Questi paradigmi sono attualmente molto utilizzati perché hanno un alto impatto traslazionale ed il vantaggio di una sostanziale conoscenza dei meccanismi molecolari dei farmaci utilizzati.

Sistema dopaminergico

Molti dei modelli utilizzati nello studio della psicosi si basano sulla teoria del coinvolgimento della dopamina nelle psicosi, che sostiene che le psicosi derivino dalle alterazioni di questo sistema. Come riportato in Forrest *et al.*, i più importanti paradigmi indotti da farmaci correlati alla dopamina sono i modelli di anfetamina e apomorfina ([Tab. 1.1](#)).

Sistema glutamatergico

Il glutammato è il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel cervello umano. Gli antagonisti NMDAR come modelli di psicosi sono di grande interesse perché coprono l'intero spettro dei sintomi della schizofrenia: sintomi positivi, negativi e cognitivi. In linea con gli studi sull'uomo, gli animali trattati con antagonisti NMDAR mostrano alterazioni elettrofisiologiche simili, coincidenti con cambiamenti comportamentali legati alla psicosi. Come riportato in Forrest *et al.*, i più importanti paradigmi indotti da farmaci correlati al glutammato sono i modelli di ketamina, MK-801 (dizocilpine) e fenciclidina (PC) ([Tab. 1.1](#)).

Sistema serotoninergico

Alcuni composti allucinogeni, come la psilocibina (il composto attivo nei funghi), la mescalina (il composto attivo nel peyote) e l'acido lisergico dietilamide (LSD), si legano ai recettori della serotonina. Ciò ha permesso di dimostrare un ruolo importante delle alterazioni serotoninergiche nelle psicosi. Esistono poche manipolazioni farmacologiche specifiche della trasmissione serotoninergica:

1. DOI (2,5-dimetossi-4-iodoanfetamina);
2. DMT (Dimetiltriptamina) (Tab. 1.I).

Modelli genetici

I modelli genetici di psicosi vengono creati attraverso l'interruzione di uno specifico *pathway* genetico, che viene identificato attraverso studi di associazione genetica in una varietà di stati psicotici.

Sistema dopaminergico

Per questo sistema neurotrasmettitoriale, sono stati creati topi transgenici per *disrupted in schizophrenia 1* (DISC1) (coinvolto nello sviluppo neurologico e nella regolazione delle sinapsi), *disbindina* (implicata nella regolazione dell'esocitosi, nella biogenesi delle vescicole e nei processi coinvolti nella trasmissione sinaptica eccitatoria), *catecol-O-metiltrasferasi* (COMT) (enzima che degrada le catecolamine) e *Gsα* (isoforma della subunità della proteina G implicata nei segnali di trasduzione del segnale) (Tab. 1.I).

Sistema glutamatergico

Per questo sistema neurotrasmettitoriale, sono stati creati topi transgenici: *neuregulina-1* (NRG1) (coinvolta nei meccanismi di crescita e differenziamento cellulare) e NR1 (subunità del recettore NMDA) (Tab. 1.I).

La D-serina è formata dalla L-serina tramite la serina racemasi (SRR) e catabolizzata dalla D-amminoacido ossidasi (DAO). C'è un grande interesse nell'utilizzo di modelli animali dove questi enzimi vengono inibiti, eliminati, sovraespressi o indotti da farmaci. In questo modo, questi modelli possono essere utili per ottenere nuovi farmaci antipsicotici. Gli effetti comportamentali osservati nei topi in cui SRR viene inibita corrispondono a sintomi schizofrenici simili a quelli nell'uomo; allo stesso modo l'inattivazione genetica di DAO che provoca alterazioni nell'apprendimento, come nella schizofrenia.

Sistema GABAergico

Alterazioni nel sistema dell'acido gamma aminobutirrico (GABA) sono state osservate in pazienti schizofrenici, suggerendo un coinvolgimento di questo sistema nei meccanismi eziopatogenetici della patologia. Diversi topi sono stati creati: topi knockout per il gene del trasportatore 1 del GABA (GAT1), topi con deficienza di glutamato decarbossilasi 67, e bicucullina, antagonista del recettore GABA-A (Tab. 1.I).

Sistema serotoninergico

Per questo sistema neurotrasmettitoriale, sono stati creati topi knockout per il gene del recettore 5-HT1A e per il gene del trasportatore della serotonina (SERT) (Tab. 1.I).

Plasticità sinaptica

Relina è una proteina coinvolta nella plasticità sinaptica e nel neurosviluppo. Nonostante la sua funzione e nonostante il modello rispecchi un fenotipo schizofrenico, ulteriori studi sono necessari per confermare la sua validità (Tab. 1.I).

Altri modelli riguardano quelli con varianti nel numero di copie (CNVs) e con la delezione 22q11.2 (Tab. 1.I).

Modelli di neurosviluppo

I modelli di sviluppo per le psicosi si basano su manipolazioni eseguite durante l'ontogenesi dell'animale che influenzano un esito evolutivo, inducendo in questo modo una serie di comportamenti legati alle psicosi.

Tra i modelli più conosciuti ci sono:

1. modelli metilazossimetano acetato (MAM) che consistono nella somministrazione di MAM, una mitotossina, agente alchilante del DNA, in ratte gravide durante il giorno gestazionale (GD) 17, che determina una metilazione anomala del DNA nella prole, che a sua volta si riflette sulle anomalie nei normali processi di neurosviluppo. Alterazioni osservate nella prole MAM riflettono quelle osservate nella schizofrenia sia dal punto di vista comportamentale (inversione della strategia di risposta, interazioni sociali); neuroanatomico (assottigliamento delle cortecce limbiche, aumento nella densità cellulare, perdita di neuroni parvalbumina) e molecolare (aumento dei neuroni dopaminergici nell'area ventrale tegmentale). Animali GD17 sono tra i più utilizzati modelli di schizofrenia. (Tab. 1.I);
2. i modelli di lesione ippocampale ventrale neonatale (nHVL) che consistono nella lesione dell'ippocampo ventrale (vHPC), equivalente all'ippocampo anteriore nell'uomo, in ratti neonatali. È importante sottolineare che i deficit comportamentali tipici della schizofrenia che emergono dopo l'adolescenza si verificano solo quando la lesione viene indotta durante il periodo neonatale e non quando gli animali sono adulti. Questo