

Diss. ETH No. 14968

**PSYCHOSTIMULANT WITHDRAWAL AS AN ANIMAL  
MODEL OF SCHIZOPHRENIA**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
Doctor of Natural Science

presented by

Holger Russig  
Dipl.-Biologist, Humboldt University Berlin

born April 21<sup>th</sup>, 1970  
citizen of Germany

Prof. Dr. Joram Feldon, examiner  
Prof. Dr. Jeffrey Gray, co-examiner  
Dr. Carol Murphy, co-examiner

2003

**ABSTRACT**

Schizophrenia is a neuropsychiatric brain disorder for which several causes have been suggested, including genetic, environmental and neurodevelopmental influences which can lead to altered neurotransmitter regulation. It has been suggested that the presence of a sensitized DA circuitry is central to the disease of schizophrenia. Thus, the disease could be understood as a case of endogenous sensitization of the mesocorticolimbic system. A state of sensitization can be induced in animals by repeated administration of psychostimulants, such as amphetamine (AMPH), followed by a period of withdrawal from the drug. Such animals exhibit enhanced (sensitized) behavioral response associated with enhanced dopamine release in the mesocorticolimbic system in response to a drug or a stress challenge. This phenomenon is referred to as behavioral sensitization and is suggested to be the consequence of an ongoing neuroadaptive process initiated by, and in response to, repeated exposures to psychostimulant drugs.

The aim of the present thesis was to investigate whether such sensitization-induced neuroadaptations can give rise to schizophrenia-related behavioral alterations. We investigated rats during withdrawal from an escalating dosage schedule of AMPH (three daily injections for six days, 1.0 – 5.0 mg/kg AMPH) in the absence of an explicit drug challenge.

Firstly, we assessed the possible presence of schizophrenia-like behavioral abnormalities in rats undergoing AMPH withdrawal in two paradigms considered to be of specific relevance to the information processing deficits associated with schizophrenia - latent inhibition (LI) and prepulse inhibition (PPI). Disruption of LI and PPI has been reported in at least some subsets of schizophrenic patients. LI was found to be abolished during the first 2 weeks of withdrawal (chapter 1, 2 and 3). On withdrawal day 4, the neuroleptic drugs haloperidol (0.03 mg/kg) and clozapine (5 mg/kg) administered prior to the test essentially reversed the disruptive influence of AMPH withdrawal on LI (chapter 2). The efficacy of neuroleptic treatment reported here has provided the initial support for the idea that AMPH withdrawal might be able to mimic the critical neuroadaptive changes in schizophrenic patients. In contrast, PPI was not affected, suggesting that the ability of AMPH withdrawal to mimic schizophrenic symptomatology is, under these

circumstances, specific (chapter 3). It further suggests that LI and PPI disruption in schizophrenic patients might represent two dissociable pathological mechanisms.

We went on to examine the possible presence of mnemonic deficits in AMPH withdrawn rats using the Morris water-maze (chapter 4). We demonstrated that AMPH withdrawal affected neither the acquisition nor the retention of spatial memory. However, in the same animals we obtained evidence for enhanced reversal learning. This finding is consistent with the view that AMPH withdrawal can enhance behavioral switching, and it is in line with one theoretical account as to how LI can be disrupted.

Next, we attempted to characterize neurochemical and molecular correlates of the neuroadaptive processes associated with AMPH withdrawal (chapter 5). The expression of the transcription factor FosB, a putative indicator of neuronal changes associated with the processes of psychostimulant withdrawal, was found to be markedly increased in the nucleus accumbens shell and basolateral amygdala when examined on withdrawal day 4. Post-mortem neurochemical analyses of dopamine, serotonin and their metabolites in mesocorticolimbic brain regions, including nucleus accumbens and amygdala, did not reveal significant effects. These results lend support for the idea that altered gene expression patterns in the nucleus accumbens shell and basolateral amygdala might be responsible for at least some of the behavioral consequences of AMPH withdrawal, including the disruption of LI.

Anhedonia is a common symptom of both schizophrenia and depression. Previous studies have shown anhedonia, but no other classes of depressive symptoms, in AMPH withdrawn rats. We therefore, investigated AMPH withdrawn rats for behavioral alterations related to depressive symptoms other than anhedonia. AMPH withdrawn animals exhibit unaltered learned helplessness and immobility in the Porsolt swim test, although they showed expression of behavioral sensitization (see chapter 6). We conclude that although AMPH withdrawal may model anhedonia, it is ineffective in mimicking other classes of depressive symptoms in rats.

We can conclude from these findings that withdrawal from an escalating dosage schedule of AMPH is an animal model of selected symptoms of schizophrenia with face, predictive and theoretically based construct validity. The model can be used to screen for drugs with antipsychotic properties in the absence of any concurrent acute

pharmacological intervention. In addition, AMPH withdrawal specifically affects the pathological mechanisms underlying LI, but not PPI, disruption. Taken together, this model can be useful for the understanding of the biological basis of specific symptoms of schizophrenia.

## ZUSAMMENFASSUNG

Schizophrenie ist eine psychiatrische Erkrankung des Gehirns, die zu Verhaltensveränderungen führt. Die neuronalen Ursachen dieser Verhaltensänderungen und deren Entstehung während der Entwicklung sind weitgehend unverstanden. Manipulierte Tiere, die Verhaltensanomalien oder neuronale Veränderungen ähnlich denen schizophrener Patienten zeigen, können als Tiermodell von grossem Nutzen sein, um die Ursachen der Krankheit zu erforschen und potentielle Arzneistoffe zu entwickeln.

Symptome der Schizophrenie können bei Menschen auch ausgelöst werden, wenn Psychostimulantien wie Amphetamin (AMPH) oder Kokain regelmässig konsumiert werden. Bei wiederholter Einnahme dieser Substanzen können adaptive Anpassungen im Gehirn entstehen, die zum Phänomen der Verhaltens-Sensitivierung (behavioral sensitization) führen. Sensitivierung ist eine erhöhte lokomotorischen Aktivität ausgelöst von einer einzelnen AMPH Gabe während des Psychostimulienentzugs im Vergleich zur Verhaltensreaktion wenn AMPH das erste Mal gegeben wird. Neuronal ist diese erhöhte Reaktion mit einer gesteigerten Ausschüttung des Neurotransmitters Dopamin im Striatum (speziell im Nucleus accumbens) verbunden und diese beruht neuronalen Anpassungen als Folge wiederholter Psychostimulant-Gabe. Verhaltens-Sensitivierung kann auch durch Stress ausgelöst werden. Es wird postuliert, dass ähnliche Mechanismen der Entstehung von Schizophrenie zu Grunde liegen könnten. Ausserdem gibt es Hinweise, dass auch Schizophreniepatienten nach einer einmaligen Gabe von AMPH mehr Dopamin im Striatum ausschütten. Dabei korreliert die Menge an Dopamin mit der Schwere der Symptome. Diese Daten bilden die Grundlage der endogenen Sensitivierungs-Hypothese der Schizophrenie. Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war es zu testen, ob Ratten während des Entzugs von einer wiederholten eskalierenden Gabe von AMPH Verhaltensanomalien zeigen, die ähnlich denen von Schizophreniepatienten sind. Auf dieser Basis könnte ein neues Tiermodell für die Schizophrenie-Forschung entwickelt werden.

Nachdem wir zeigen konnten, dass das von uns genutzte AMPH Injektionsschema (3 tägliche Injektionen über 6 Tage, 1-5 mg/kg AMPH) zu Verhaltens-Sensitivierung führt, testeten wir die Tiere ausschliesslich ohne erneute AMPH Injektion während des Entzugs, um die Effekte zu untersuchen, die die neuronalen Anpassungen auf das Verhalten haben. Schizophreniepatienten leiden unter Defiziten in der Informationsverarbeitung von Reizen, die als Aufmerksamkeitsstörungen bezeichnet werden. Verschiedene Verhaltensparadigmen

können zur Messung dieser Informationsverarbeitung sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte eingesetzt werden. Latente Inhibition (LI, latent inhibition) beschreibt die reduzierte Konditionierung zu einem Stimulus, wenn dieser Stimulus vorher ohne Konsequenz exponiert wurde. Präpuls Inhibition (PPI, prepulse inhibition) beschreibt einen Prozess, bei dem die durch einen lauten Puls ausgelöste Schreckreaktion (startle response) reduziert wird, wenn vor diesem Puls ein leiserer Präpuls präsentiert wird, der nicht zu einer Schreckreaktion führt. Schizophrene Patienten zeigen Defizite in beiden Phänomenen. Während der ersten 14 Tage des AMPH Entzugs bei Ratten fanden wir reduzierte LI, während PPI unverändert blieb. Die LI Reduktion während des AMPH Entzugs konnte verhindert werden, wenn die Tiere vor dem Test mit Haloperidol oder Clozapin behandelt wurden. Diese Antipsychotika werden in der medizinischen Praxis zur Therapie schizophrener Symptome eingesetzt.

Da Schizophrenie auch mit Defiziten im räumlichen Arbeitsgedächtnis verbunden ist, untersuchten wir weiterhin, ob diese Ratten kognitive Defizite im Wasserlabyrinth (Morris water maze) zeigen. AMPH Entzug hatte keinen Einfluss auf räumliches Lernen und Gedächtnis. Wir fanden ein leicht verbessertes Lernen, wenn die Zielplattform in den gegenüberliegenden Quadranten versetzt wurde (reversal learning). Dieses Phänomen ist mit erhöhtem „switching“ erklärbar und wird als eine theoretische Grundlage von gestörter LI angesehen.

In weiteren Studien untersuchten wir, welche Hirnstrukturen und Neurotransmitter, die eventuell für die gefundenen LI Defizite verantwortlich sein könnten, während des AMPH Entzugs verändert sind. Erhöhte Expression des Transkriptionsfaktors FosB wurde in Teilregionen der Amygdala (basolateral amygdala) und des Striatums (nucleus accumbens shell) gefunden, konnten aber nicht mit einer Veränderung der basalen Gewebewerte der Neurotransmitter Dopamin, Serotonin oder deren Metaboliten korreliert werden. Frühere Studien haben ergeben, dass diese Hirnregionen an der Regulation von LI beteiligt sind.

Einige Wissenschaftler betrachten die frühe Phase des AMPH Entzugs als Tiermodell für Depression, da in dieser Zeit Anhedonia auftreten kann, ein wichtiges Symptom von Depression, das auch für die Schizophrenie von Bedeutung ist. Wir testeten, ob während des AMPH Entzugs auch weitere Verhaltens-Effekte in Tests auftreten können, die depressive Symptome wie Hilflosigkeit (learned helplessness) und Verzweiflung (behavioral despair) widerspiegeln. Dies war nicht der Fall, und wir fanden auch keine Effekte in der Menge freigesetzter Stress-Hormone. Wir schliessen daraus, dass unsere Behandlung neben Anhedonia keine weiteren Symptome von Depression hervorruft.

Aus den empirischen Befunden der vorliegenden Arbeit kann geschlossen werden, dass Ratten, die einer wiederholten eskalierenden AMPH-Gabe ausgesetzt sind, während des Entzugs einige (aber nicht alle) Defizite schizophrener Patienten zeigen. LI Reduktion, die von einer veränderten Gen-Expression in der „basolateral amygdala“ und im „nucleus accumbens shell“ herrühren könnten, wird durch eine Neuroleptika-Behandlung wieder eliminiert. Wir schliessen daraus, dass Ratten, die einer wiederholten eskalierenden AMPH-Gabe ausgesetzt waren, ein geeignetes Tiermodell zur Untersuchung der Neurobiologie spezieller Symptome der Schizophrenie darstellen. Auf der Grundlage der vorgenommenen Manipulation sollten Arzneistoffe auf ihre antipsychotischen Eigenschaften hin untersucht werden können. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass das hier postulierte Tiermodell für Schizophrenie die Kriterien der „face“ und „predictive“ Validität erfüllt. Aufgrund des theoretischen Hintergrundes des Tiermodells kann auch von der Erfüllung des Kriteriums für die „construct“ Validität ausgegangen werden.