



Doctoral Thesis

## Assessment of genetic and environmental factors in animal models of schizophrenia

**Author(s):**

Bitanihirwe, Byron Kiiza Yafesi

**Publication Date:**

2011

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006688010> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

**DISS. ETH No. 19687**

**ASSESSMENT OF GENETIC AND ENVIRONMENTAL FACTORS IN  
ANIMAL MODELS OF SCHIZOPHRENIA**

A dissertation submitted to the

**SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH**

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

**Byron Kiiza Yafesi Bitanihirwe**

M.Sc. Neuroscience

King's College London, University of London

Born August 21<sup>st</sup>, 1980

Citizen of Uganda

Accepted on the recommendation of:

Prof. Dr. Joram Feldon, Principal examiner

Dr. Urs Meyer, Co-examiner

Prof. Dr. Manfred Schedlowski, Co-examiner

**2011**

## SUMMARY

Schizophrenia is a chronic, severe and debilitating mental illness. It occurs as a sporadic and heritable disease, typically presenting in adolescence or early adulthood, and leads to great disability and distress. The prevailing hypothesis for the etiology of schizophrenia is that variations in multiple risk genes, each contributing a subtle effect, interact with each other and with environmental stimuli to impact both early and late brain development. Although a clear mechanism underlying the pathogenesis of schizophrenia remains unknown, maternal immune activation as a consequence of exposure to infection during pregnancy has become an attractive hypothesis for explaining, at least in part, the pathophysiology of schizophrenia.

The main aim of this thesis was to evaluate and compare two animal models of schizophrenia: an environmental model and a genetic model. For the environmental animal model I employed a well-established experimental mouse model of prenatal exposure to a viral-like acute phase response induced by the synthetic analogue of double-stranded ribonucleic acid, polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (Poly-I:C). Whereas for the genetic model I used a double transgenic mouse model with an inducible expression system of mutant human Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1). In this respect, DISC1 has emerged as a strong candidate gene associated with major mental illness including depression, anxiety, bipolar disorder and schizophrenia.

The first series of experiments sought to assess the validity of the “*Critical time window hypothesis*” and to determine whether as opposed to the positive symptoms associated with immune activation during early/middle pregnancy that immune activation during late pregnancy with Poly-I:C may result in a cluster of behavioural and neuropathological changes reminiscent of the negative profile observed in schizophrenia. It was found that maternal immune activation with Poly-I:C during late pregnancy (i.e. gestation day 17) led to delay-dependent impairments in spatial working memory and

recognition memory together with a marked reduction of V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1(AKT1)-positive cells in the prefrontal cortex (**CHAPTER 2**). Interestingly, correlative analyses demonstrated a significant positive correlation between the number of AKT1-positive cells and cognitive performance under high storage load in the temporal domain. It was concluded that alterations in AKT1 signaling and associated cognitive dysfunctions may not only result from a genetic predisposition but may also arise from (immune associated) environmental insults.

The next series of experiments showed that immune activation during late pregnancy leads to phenotypes relevant to the negative and executive/cognitive symptoms of schizophrenia (**CHAPTER 3**). Poly-I:C mice exhibited anhedonia and abnormalities in social behaviour in addition to alterations in the locomotor and stereotyped behavioural responses to acute apomorphine treatment. Specifically, male but not female offspring born to immune challenged mothers displayed behavioural/cognitive inflexibility as indexed by the presence of an abnormally enhanced latent inhibition effect (a measure of selective attention). Prenatal immune activation during late gestation also led to numerous, partly sex-specific changes in basal neurotransmitter levels including reduced dopamine and glutamate contents in the prefrontal cortex and hippocampus. This pattern of results supports the possibility that infection-mediated interference with early fetal brain development may predispose the developing organism to the emergence of neurochemical imbalances in adulthood, which may be critically involved in the precipitation of adult behavioural and pharmacological abnormalities.

The research described in the subsequent chapters aimed at evaluating the *in vivo* functional role of DISC1 in behaviour. For this purpose, a transgenic mouse model of inducible expression of mutant human DISC1 (hDISC1 mutant) was employed to explore the effect of this gene product on schizophrenia relevant behavioural endophenotypes. The first series of experiments revealed that adult mice expressing

mutant human DISC1 are unaffected across a variety of behavioural domains, including exposure to a novel environment, selective attention and sensory motor gating in the form of prepulse inhibition of the startle response (**CHAPTER 4**). However, mice that expressed mutant human DISC1 exhibited an increased overall performance in visual attention using a two-choice visual discrimination/detection test. In addition, the locomotor activating effect of amphetamine, a behavioural measure of mesolimbic dopamine activity, was significantly enhanced in hDISC1 mutant mice. Interestingly, the locomotor activating effect of dizocilpine, a behavioural measure of glutamatergic neurotransmission, was shown to facilitate the locomotor response in female hDISC1 mutant mice. These results suggest that the expression of mutant human DISC1 contributes to some - but not all - aspects of the schizophrenia-like phenotype, mainly in the form of an increased responsiveness to psychostimulants.

In order to further dissect the cognitive effects of mutant human DISC1 expression, additional behavioural tests were conducted using this transgenic mouse model. Cognitive performance of hDISC1 mutant mice was assessed across several behavioural domains, including novel spatial recognition, spatial learning and memory, object exploration and reversal learning (**CHAPTER 5**). hDISC1 mutant mice displayed cognitive inflexibility in addition to deficits in novel spatial and object recognition memory although spatial working memory was spared. As similar deficits in recognition memory and cognitive flexibility have been found in schizophrenia, hDISC1 mutant mice may also model certain aspects of cognition and behaviour relevant to schizophrenia.

The combined results from the studies in this thesis present a complex behavioural phenotype that suggests altered neuropathological and neurochemical interactions following prenatal Poly-I:C immune activation in mice that are dynamic; demonstrating both sex and brain region specificity. Similarly, expression of mutant human DISC1 exerts differential effects on various behavioural phenotypes relevant to schizophrenia. Future studies would be required in order to elucidate whether the development of the

behavioural, neuropathological and neurochemical alterations in both these rodent models of schizophrenia follows a temporal profile similar to the emergence of the symptomology observed in schizophrenia patients and whether these anomalies may be reversed by pharmacological interventions or by alternative methods such as environmental enrichment or physical exercise. Nonetheless, the findings from this thesis provide further support for the involvement of both genetic and environmental components in schizophrenia and suggest that a deficit in either one of these elements can result in long-term behavioural and neuropathological alterations.

## RÉSUMÉ

La schizophrénie est une maladie mentale chronique, grave et débilitante. C'est une maladie sporadique et héréditaire, généralement présente à l'adolescence ou l'âge adulte qui conduit à une grande invalidité et une grande détresse. L'hypothèse qui prévaut pour l'étiologie de la schizophrénie est que des variations dans les gènes à risques, qui contribuent subtilement et interagissent les uns avec les autres mais aussi avec les stimuli environnementaux et impactent à la fois le développement précoce et tardif du cerveau. Bien qu'il n'existe pas un mécanisme clair qui explique la pathogénie de la schizophrénie, l'exposition à une infection pendant la grossesse ayant pour conséquence l'activation du système immunitaire maternel est une hypothèse séduisante pour expliquer, du moins en partie, la physiopathologie de la schizophrénie.

L'objectif principal de cette thèse était d'évaluer et de comparer deux modèles animaux de la schizophrénie: un modèle environnemental et un modèle génétique. Nous avons utilisé un modèle expérimental animal environnemental bien établi chez la souris qui consiste en une exposition prénatale de type viral aiguë induite par l'analogue synthétique du double-brin d'acide ribonucléique, acide polyriboinosinique-polyribocytidilique (Poly-I:C). Pour le modèle génétique, nous avons utilisé un modèle de souris doublement transgéniques avec un système d'expression inductible de mutants humains du gène Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1). À cet égard, DISC1 a émergé comme un gène candidat qui est fortement associé à une maladie mentale grave, comme la dépression, l'anxiété, le trouble bipolaire et la schizophrénie.

La première série d'expériences a cherché à évaluer la validité de «l'hypothèse du temps critique» et de déterminer si, par opposition aux symptômes positifs associés à l'activation immunitaire pendant la grossesse précoce ou moyenne, que l'activation immunitaire en fin de grossesse avec Poly-I:C peut aboutir à une constellation de changements comportementaux et neuropathologiques rappelant le profil

négatif observé dans la schizophrénie (**CHAPITRE 2**). On a constaté que l'activation immunitaire maternelle avec Poly-I:C en fin de grossesse (soit après 17 jours de gestation) conduit à des retards temporels et des déficiences dans la mémoire de travail spatiale et la mémoire de reconnaissance avec une réduction marquée des cellules du cortex préfrontal positives pour V-akt, l'homologue murin de l'oncogène viral du thymome 1 (AKT1). Fait intéressant, les analyses de corrélations ont démontré une corrélation positive significative entre le nombre de cellules positives AKT1 et la performance cognitive sous charge de stockage élevée dans la région temporale. Il a été conclu que les altérations de la signalisation pour AKT1 et les dysfonctionnements cognitifs associés ne peuvent résulter que d'une prédisposition génétique, mais peuvent également découler de dommages environnementaux associés à l'immunité.

Une seconde série d'expériences ont montré que l'activation immunitaire pendant la grossesse tardive conduit à des phénotypes qui sont pertinents pour les symptômes négatifs et exécutif /cognitifs de la schizophrénie (**CHAPITRE 3**). Les souris exposées aux Poly-I:C montraient une anhédonie et des anomalies dans le comportement social, en plus de modifications dans les réponses locomotrices et stéréotypées de comportement due au traitement apomorphinique aiguë. Plus précisément, seul les descendants mâles, nés de mères ayant été immunitairement affectées, affichent une inflexibilité comportementale / cognitive indexée par la présence d'un effet d'inhibition latente anormalement accrue (une mesure de l'attention sélective). L'activation immunitaire prénatale en fin de gestation a également conduit à de nombreux changements, en partie liés au sexe quant aux niveaux de base en neurotransmetteurs, comprenant une réduction du contenu en dopamine et en glutamate dans le cortex préfrontal et l'hippocampe. Ces résultats tendent à soutenir la possibilité que l'infection interfère avec le développement du cerveau fœtal précoce et peut prédisposer l'organisme en développement à une émergence de déséquilibres neurochimiques à l'âge adulte, qui peuvent être impliqués de façon critique dans la précipitation chez l'adulte d'anomalies comportementales et pharmacologiques.



La recherche décrite dans les chapitres suivants visait à évaluer, *in vivo*, le rôle fonctionnel de DISC1 dans le comportement. À cette fin, un modèle transgénique murin d'expression inducible de mutants humains de DISC1 (hDISC1 mutant) a été utilisé pour explorer l'effet de ce produit du gène sur les endophenotypes comportementaux pertinents de la schizophrénie. La première série d'expériences a montré chez les souris adultes qui expriment le DISC1 humain mutant, qu'elles ne sont pas affectées dans des domaines comportementaux aussi divers que, l'exposition à un nouvel environnement, l'attention sélective et de déclenchement sensorimoteur sous la forme de préimpulsion d'inhibition à la réaction de sursaut (**CHAPITRE 4**). Cependant, les souris qui exprimaient le DISC1 humain mutant montraient une performance globalement accrue d'attention visuelle avec un test visuel à double choix de discrimination/détection. En outre, l'effet d'amphétamine activatrice de la locomotion, qui est aussi une mesure comportementale de l'activité dopaminergique mésolimbique, a été significativement renforcé chez les souris hDISC1 mutantes. Fait intéressant, l'effet d'activation de la locomotion de la dizocilipine, qui est une mesure comportementale de la neurotransmission glutamatergique, a montré une facilitation de la réponse locomotrice des souris femelles mutantes hDISC1. Ces résultats suggèrent que l'expression de mutants humains DISC1 contribue pour certains - mais pas tous - les aspects du phénotype de type schizophrénique, principalement sous la forme d'une réactivité accrue aux psychostimulants.

Afin de continuer à disséquer les effets cognitifs de l'expression de DISC1 humain mutant, d'autres tests comportementaux ont été réalisés en utilisant ce modèle de souris transgéniques. Les performances cognitives des souris hDISC1 mutantes ont été évaluées dans plusieurs domaines du comportement, y compris la reconnaissance spatiale, l'apprentissage et la mémoire spatiale, l'exploration et l'apprentissage objet d'inversion (**CHAPITRE 5**). Les souris hDISC1 mutantes affichent une inflexibilité cognitive, en plus de déficits de la mémoire spatiale et dans la reconnaissance d'objets nouveaux, bien que l'espace mémoire de travail soit épargné. Comme des déficits similaires dans la mémoire de reconnaissance et de la flexibilité cognitive ont été observés dans la schizophrénie, les souris

hDISC1 mutantes peuvent ainsi modéliser certains aspects de la cognition et du comportement pertinents à la schizophrénie.

Les résultats combinés des études de cette thèse présentent un phénotype comportemental complexe qui suggère une altération des interactions neuropathologiques et neurochimiques à la suite d'une activation prénatale du système immunitaire avec les Poly-I: C chez les souris, altérations qui sont dynamiques; démontrant à la fois une spécificité due au sexe et à la région du cerveau. De même, l'expression de mutants DISC1 humains exerce des effets différentiels sur différents phénotypes comportementaux pertinents à la schizophrénie. Des études futures seraient nécessaires afin d'élucider si le développement des altérations du comportement, à la fois neuropathologiques et neurochimiques chez ces deux modèles murins de la schizophrénie suit un profil temporel similaire à l'émergence de la symptomatologie observée chez les patients schizophrènes et si ces anomalies peuvent être inversés par des interventions pharmacologiques ou par des méthodes alternatives telles que l'enrichissement de l'environnement ou l'exercice physique. Néanmoins, les résultats de cette thèse fournissent un appui supplémentaire quant à l'implication de composants génétiques et environnementaux dans la schizophrénie et suggèrent que le déficit dans un de ces éléments peut conduire à long terme à des altérations comportementales et neuropathologiques.

## ZUSAMMENFASSUNG

Schizophrenie ist eine chronische, schwere und schwächende Geisteskrankheit. Es tritt als sporadische und vererbare Erkrankung, die typischerweise präsentiert in der Adoleszenz oder im frühen Erwachsenenalter und führt zu großen Behinderung und Leid. Die vorherrschende Hypothese für die Ätiologie der Schizophrenie ist, dass Schwankungen in mehrere Risikogene, jeder trägt einen subtilen Effekt, mit einander und mit Reize aus der Umwelt zu Auswirkungen der frühen und späten Entwicklung des Gehirns zu interagieren. Obwohl eine klare Mechanismus der Pathogenese der Schizophrenie ist unbekannt, mütterliche Immunsystem-Aktivierung als Folge der Exposition gegenüber Infektionen während der Schwangerschaft ist zu einem attraktiven Hypothese zur Erklärung, zumindest teilweise, der Pathophysiologie der Schizophrenie.

Das Hauptziel der vorliegenden Dissertation war es, zwei Tiermodelle der Schizophrenie zu evaluieren und zu vergleichen: ein Umwelt- und ein genetisches Modell. Bezüglich des Umweltmodells benutzten wir ein etabliertes experimentelles Mausmodell der pränatalen Exposition gegenüber Virus-ähnlichen Akut-Phasenreaktionen induziert durch ein synthetisches Analogon der Doppelhelix der Ribonukleinsäure, namentlich Polyriboinosin-Polyribocytidilinsäure (Poly-I:C). Bezüglich des genetischen Modells benutzten wir ein doppeltes transgenes Mausmodell mit einem induzierbaren Expressionssystem der humanen Disrupted-in-Schizophrenia-1-Mutante (DISC1). In dieser Hinsicht hat sich das DISC1-Gen als ein wichtiger Kandidat herausgestellt, welches mit den häufigsten psychischen Erkrankungen wie Depression, Angst- und bipolaren Störungen und Schizophrenie assoziiert ist.

In der ersten Serie von Experimenten sollte die Validität der „Kritischen Zeitfenster Hypothese“ untersucht und bestimmt werden, ob im Gegensatz zu den mit der Immunaktivierung verbundenen Positivsymptomen während der Früh- und mittleren Trächtigkeit die Immunaktivierung während der Spätträchtigkeit assoziiert mit Poly-I:C zu einem Cluster von Verhaltens- und neuropathologischen

Veränderungen führt, der den Negativsymptomen der Schizophrenie ähnelt (**KAPITEL 2**). Es wurde herausgefunden, dass die maternale Immunaktivierung mit Poly-I:C während der Spätträchtigkeit (Gestationstag 17) zu Verzögerungs-abhängigen Beeinträchtigungen im räumlichen Arbeitsgedächtnis und des Wiedererkennungsgedächtnisses führte, verbunden mit einer deutlichen Reduktion der murinen V-akt Thymom viralen Onkogen homologen 1 (AKT1)-positiven Zellen im präfrontalen Cortex. Interessanterweise zeigten Korrelationsanalysen einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen der Zahl der AKT1-positiven Zellen und der kognitiven Leistungsfähigkeit unter hoher Speicherlast in der zeitlichen Domäne. Daher wurde geschlussfolgert, dass Änderungen im AKT1-Signaling und assoziierte kognitive Dysfunktionen nicht nur das Resultat einer genetischen Prädisposition sind, sondern auch auf (immun-assoziierten) Umweltschäden beruhen.

Die nächste Serie von Experimenten zeigt, dass Aktivierung des Immunsystems während der späten Schwangerschaft zu Phänotypen, die für die negativen und Executive / kognitive Symptome der Schizophrenie führt (**KAPITEL 3**). Poly-I:C Mäuse zeigten Anhedonie und Anomalien im sozialen Verhalten zusätzlich zu Veränderungen in der Bewegungs- und stereotype Verhaltensweisen an die akute Apomorphin-Behandlung. Insbesondere angezeigt männlichen, aber nicht weiblichen Nachkommen geboren, um immun herausgefordert Mütter Verhaltenstherapie / kognitive Inflexibilität durch die Anwesenheit eines ungewöhnlich verbesserte latente Inhibition-Effekt (ein Maß für die selektive Aufmerksamkeit) indiziert. Pränatale Immunaktivierung während der späten Schwangerschaft auch zu zahlreichen, zum Teil geschlechtsspezifische Veränderungen der basalen Neurotransmitter Ebenen, einschließlich reduzierter Dopamin und Glutamat Inhalte im präfrontalen Kortex und im Hippocampus führte. Dieses Muster der Ergebnisse unterstützt die Möglichkeit, dass eine Infektion-Interferenz mit der frühen fetalen Entwicklung des Gehirns kann sich entwickelnden Organismus die Entstehung von neurochemischen Ungleichgewicht im Erwachsenenalter, die sich kritisch in die Fällung von erwachsenen Verhaltens- und pharmakologische Veränderungen einbezogen werden prädisponieren können.

Die Forschung in den nachfolgenden Kapiteln beschriebenen bei der Bewertung der in vivo funktionelle Rolle DISC1 im Verhalten abzielen. Zu diesem Zweck wurde ein transgenes Mausmodell der induzierbare Expression von mutierten Menschen DISC1 (hDISC1 Mutante) eingesetzt, um die Wirkung dieses Gens Produkt auf Schizophrenie relevanten Verhaltens Endophänotypen erkunden. Die erste Serie von Experimenten gezeigt, dass erwachsene Mäuse mit mutierten humanen DISC1 unberührt in einer Vielzahl von Verhaltens-Domänen, einschließlich der Exposition gegenüber einer neuen Umgebung, selektive Aufmerksamkeit und sensomotorischen Gating in Form von Vorpuls Hemmung der Schreckreaktion sind (**KAPITEL 4**). Jedoch zeigte Mäusen, dass mutierte menschliche DISC1 Ausdruck einer erhöhten Gesamt-Performance in der visuellen Aufmerksamkeit mit einem Zwei-Wahl visuelle Diskriminierung / Erkennung im Test. Darüber hinaus wurde am Bewegungsapparat aktivierende Wirkung von Amphetamin, eine Verhaltensänderung Maß mesolimbischen Dopamin-Aktivität, deutlich in hDISC1 mutierten Mäusen verbessert. Interessanterweise war der Bewegungsapparat aktivierende Wirkung von dizocilipine, eine Verhaltensänderung messen der glutamatergen Neurotransmission, dargestellt am Bewegungsapparat Reaktion bei weiblichen hDISC1 mutierten Mäusen zu erleichtern. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Expression von mutierten Menschen DISC1 einige beiträgt - aber nicht alle - Aspekte der Schizophrenie-ähnlichen Phänotyp, vor allem in der Form einer erhöhten Reaktionsfähigkeit auf Psychostimulanzien.

Um weitere sezieren die kognitiven Wirkungen von mutierten Menschen DISC1 Expression wurden zusätzliche Verhaltenstests durchgeführt unter Verwendung dieser transgenen Mausmodell. Kognitive Leistungsfähigkeit hDISC1 mutierten Mäusen wurde über mehrere Domänen Verhaltens, einschließlich neuartiger räumlicher Anerkennung, räumliches Lernen und Gedächtnis, Objekt Exploration und Umkehr Lernen beurteilt (**KAPITEL 5**). hDISC1 mutierten Mäuse zeigten kognitive Inflexibilität neben Defiziten in neue Raum-und Objekterkennung Speicher obwohl räumliche Arbeitsgedächtnis wurde verschont. Da ähnliche Defizite in Anerkennung Gedächtnis und kognitive

Flexibilität bei der Schizophrenie gefunden haben, können hDISC1 mutierten Mäusen auch Modell bestimmte Aspekte der Kognition und Verhalten relevant Schizophrenie.

Zusammenfassend beschreiben die in dieser Dissertation zusammengefassten Ergebnisse einen komplexen Verhaltensphänotyp mit veränderten neuropathologischen und -chemischen Interaktionen folgend aus einer pränatalen Poly-I:C Immunaktivierung in Mäusen, welche dynamisch ist und zudem geschlechts- und Hirnregion-spezifisch ist. Ebenso zeigt die Expression der mutierten humanen DISC1 unterschiedliche Auswirkungen auf verschiedene Verhaltensphänotypen mit Relevanz für die Schizophrenie. Zukünftige Studien wären nötig um herauszufinden of die Entwicklung der Verhaltens-, neuropathologischen und neurochemischen Veränderungen in beiden Nagetiermodellen der Schizophrenie einem zeitlichen Profilähnlich dem Auftreten der Symptome entspricht, die bei Schizophrenie Patienten beobachtet werden und ob diese Anomalien durch pharmakologische Intervention oder alternative Methoden, wie Umweltanreicherung oder physische Aktivität umgekehrt werden können. Dennoch unterstützen die Erkenntnisse dieser Arbeit weiter die Einfluss sowohl genetischer als auch Umweltfaktoren auf die Schizophrenie und lassen vermuten, dass ein Defizit in einem dieser beiden Elemente zu langfristigen Verhaltens- und neuropathologischen Veränderungen führen kann.

## RIASSUNTO

La schizofrenia è stata a lungo vista come un disturbo debilitante cronico con un esito quasi inevitabilmente negativo. Si manifesta come una malattia sporadica ed ereditaria. In oltre, la schizofrenia si presenta in adolescenza o all'inizio dell'età adulta, e porta alla disabilità e grande angoscia. L'ipotesi prevalente per l'eziologia della schizofrenia è che le variazioni nei geni di rischio interagiscono tra loro e con stimoli ambientali che interrompano lo sviluppo normale del cervello. Anche se un chiaro meccanismo alla base della patogenesi della schizofrenia rimane sconosciuta, l'attivazione del sistema immunitario materno come conseguenza di esposizione a infezione durante la gravidanza è diventata una ipotesi interessante per spiegare, almeno in parte, la fisiopatologia della schizofrenia.

L'obiettivo principale di questa tesi è stato di valutare e di confrontare due modelli animali di schizofrenia: un modello ambientale e un modello genetico. Per il modello ambientale ho usato un ben definito modello sperimentale di esposizione prenatale. Questo modello stimola una risposta immunitaria con un analogo sintetico del doppio intrecciato acido ribonucleico, polyribonucleosinico-polyribocitidilico acido (Poly-I:C). Per il modello genetico ho usato un topo transgenico con una sistema che induce l'espressione del mutante umano Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1). A questo proposito, DISC1 è emerso come un forte gene candidato associata a grave malattia mentale tra cui la depressione, ansia, disturbo bipolare e la schizofrenia.

La prima serie di esperimenti ha cercato di valutare la validità del “*Critical time window hypothesis*” e stabilire se in contrasto a gli sintomi positivi della schizofrenia che sono associati con l'attivazione del sistema immunitario durante la gravidanza iniziale/mezzo, che l'attivazione della sistema immunitario durante la gravidanza in tarda con Poly-I:C potrebbe risultare in un gruppo di cambi

comportamentali e neuropatologici che assomiglia ad un profilo negativo osservati nella schizofrenia (**CAPITOLO 2**). Si è constatato che l'attivazione della sistema immunitaria materna con Poly-I:C durante la gravidanza in tarda (ad esempio il 17° giorno di gravidanza) può risultare in un'attenuazione ritardo-dipendente nella memoria di funzionamenti spaziale e di memoria di riconoscimento insieme con una riduzione di V-akt omologo murino timoma oncogene virale (AKT1)-cellule positive nella corteccia prefrontale. È interessante notare che le analisi correlative hanno dimostrato una significativa correlazione positiva tra il numero di AKT1-cellule positive e l'esecuzione cognitiva quando il 'peso' è stato alto nel dominio temporale. Si è concluso che alterazioni nella segnalazione di AKT1 e disfunzioni cognitive non può scaturire soltanto da una predisposizione genetica, ma può anche derivare da (immunitaria associata) ambientale insulti.

Le prossime serie di esperimenti hanno dimostrato che l'attivazione immunitaria durante gravidanza in tarda risulta in fenotipi rilevanti per i sintomi negativi ed esecutivo/cognitivi della schizofrenia (**CAPITOLO 3**). Topi Poly-I:C hanno mostrato una mancanza di soddisfazione e delle anomalie in comportamento sociale in oltre a delle alterazioni di comportamento locomotorio e stereotipico seguendo trattamento con apomorfina. In particolare, prole di sesso maschile ma non femminile nati da madri esposte ad attivazione immunitaria prenatale hanno dimostrato comportamento/cognitivo inflessibile indicato dalla presenza di un'anormale potenziamento di *latent inhibition* (una misura di attenzione selettiva). In oltre, l'attivazione del sistema immunitario materno durante gravidanza in tarda è risultato in numerosi cambiamenti in parte sesso-specifici dei livelli di neurotrasmettitori compreso una riduzione di dopamina e glutammato nella corteccia prefrontale e nell'ippocampo. Questo schema di risultati sostiene la possibilità che interferenza mediata da infezioni con lo sviluppo del cervello fetale potrebbe predisporre l'organismo che si sta sviluppando a l'emergere di un squilibrio neurochimico durante l'età adulta, che potrebbe essere coinvolto nella precipitazione dei comportamenti anomali durante l'età adulta.



La ricerca descritta nei capitoli successivi ha cercato di valutare il ruolo funzionale di DISC1 nel comportamento. A questo scopo, un topo transgenico d'espressione inducibile di mutante umano Disrupted-in-Schizophrenia-1 (hDISC1 mutante) è stato impiegato per esplorare l'effetto di questo gene su dei comportamenti rilevanti alla schizofrenia. Le prime serie di esperimenti hanno rivelato che topi adulti che esprimono il mutante umano DISC1 non sono inalterati attraverso una varietà di domini cognitivi, compresa l'esposizione ad un ambiente nuovo, l'attenzione selettiva e *prepulse inhibition* (**CAPITOLO 4**). Tuttavia, i topi che esprimono il mutante umano DISC1 hanno dimostrato un aumento nell'esecuzione di attenzione visuale durante un test di discriminazione visiva. In oltre, l'effetto locomotorio del anfetamina, una misura comportamentale di attività dopaminergico mesolimbico, era potenziato nei topi hDISC1 mutanti. In oltre, l'effetto locomotorio di dizocilpina, una misura della neurotrasmissione glutamatergica, ha dimostrato di facilitare la locomozione in topi hDISC1 mutanti femminili. Questi risultati suggeriscono che l'espressione del mutante umano DISC1 contribuisce ad alcuni – ma non tutti – gli fenotipi della schizofrenia – principalmente sotto forma di un aumento della risposta a psicostimolanti.

In modo di dissezionare gli effetti cognitivi dell'espressione di hDISC1 mutante, ulteriori test comportamentali sono stati condotti utilizzando questo topo transgenico. L'esecuzione cognitiva dei topi hDISC1 mutanti è stata valutata attraverso alcuni domini del comportamento, tra i quali il riconoscimento spaziale, l'apprendimento spaziale e memoria, l'esplorazione di un nuovo oggetto e l'inversione di apprendimento (**CAPITOLO 5**). Topi che esprimono il mutante umano DISC1 mostrano inflessibilità cognitiva in oltre a carenze in memoria di nuovo spazio e memoria di riconoscimento dei oggetti nonostante la memoria di funzionamenti spaziale è stato risparmiato. Poiché simili carenze in memoria di riconoscimento e inflessibilità sono stati osservati in pazienti con la schizofrenia, topi che esprimono il mutante umano DISC1 potrebbero modellare certi aspetti di cognizione e comportamento rilevanti alla schizofrenia.

I risultati complessivi degli studi in questa tesi presentano un fenotipo di comportamento complesso che suggerisce alterate interazioni neuropatologiche e neurochimiche seguendo l'attivazione immunitaria prenatale con Poly-I:C in topi, dimostrando sia sesso e regione specificità del cervello. Allo stesso modo, l'espressione del mutante umano DISC1 esercita effetti differenziali su vari fenotipi di comportamento rilevanti alla schizofrenia. Studi futuri saranno necessari per delucidare se lo sviluppo del comportamento, la neuropatologia, e la neurochimica alterata in entrambi questi due modelli della schizofrenia seguono un profilo temporale simile all'emergere dei sintomi osservati in pazienti con la schizofrenia, e se queste anomalie possono essere invertite con intervento farmacologico, o con altri metodi come l'arricchimento del ambiente o persino esercizio fisico. Tuttavia, i risultati da questo tesi forniscono più sostegno per il coinvolgimento di entrambi componenti genetici e ambientali nella schizofrenia e suggeriscono che una carenza di uno o l'altro di questi elementi può risultare in un'alterazione del comportamento e neuropatologia a lungo termine.