

Uloga kortikalnih interneurona u patogenezi shizofrenije

Prkačin, Matija Vid

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:826371>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Matija Vid Prkačin

**Uloga kortikalnih interneurona u patogenezi
shizofrenije**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za anatomiju „Drago Perović“ pod vodstvom doc.dr.sc. Ane Hladnik i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

POPIS KRATICA

5-HT – serotonin

BGT – betainski GABA transporter

CB – kalbindin

CCK – kolekistokinin

CCKb – kolekistokininski košarasti interneuroni

Chc – parvalbuminske svijećaste stanice

CR – kalretinin

CT – kompjutorizirana tomografija

DA – dopamin

DSM – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (dijagnostički i statistički priručnik mentalnih bolesti)

EPSP – ekscitacijski postsinaptički potencijal

GABA – gama-aminomaslačna kiselina

GAD – glutamat dekarboksilaza

GAT – GABA transporter

Hz – herc

ICD – International Classification of Diseases

IPSP – inhibicijski postsinaptički potencijal

LSD – Lysergic acid diethylamide (dietilamid lizergične kiseline)

MHPG – 3-Metoksi-4-hidroksifenilglikol

MKB – Međunarodna klasifikacija bolesti

MR – magnetska rezonancija

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina

MRS – spektroskopija magnetskom rezonancijom

NMDA – N-metil-D-aspartat

PCP – fenciklidin

PET – pozitronska emisijska tomografija

PV – parvalbumin

PVBC – parvalbuminski košarasti interneuroni

rCPK – regionalni cerebralni protok krvi

SPECT – single-photon emission computed tomography (jednofotonska emisijska kompjutorizirana tomografija)

SST – somatostatin

TH-IR – tirozin hidroksilaza

VGAT – vezikularni GABA transporter

VIP – vazoaktivni intestinalni polipeptid

SADRŽAJ

1. SAŽETAK.....	
2. SUMMARY.....	
3. UVOD.....	1
4. SHIZOFRENIJA.....	2
4.1 Dijagnoza shizofrenije.....	3
4.2 Etiologija shizofrenije.....	4
4.2.1 Neurorazvojni model.....	4
4.2.2 Strukturalne i funkcijske promjene mozga u shizofreniji.....	8
4.2.3 Neurobiokemijske hipoteze o nastanku shizofrenije.....	9
5. FUNKCIONALNO USTROJSTVO NEURONA U SREDIŠNJEM ŽIVČANOM SUSTAVU.....	12
5.1 Piramidni neuroni.....	12
5.2 Interneuroni.....	13
5.2.1 Razvoj i migracija interneurona.....	13
5.2.2 Vrste interneurona.....	14
5.2.3 Gama-aminomaslačna kiselina	15
5.3 Postsinaptički potencijali – EPSP i IPSP.....	19
5.4 Neuronski krugovi i mreže.....	20

5.4.1 Jednostavni neuronski krugovi s umetnutim interneuronima.....	20
5.4.2 Složeni oblici zatvorenih neuronskih krugova povratne sprege.....	22
5.4.3 Disinhibicija u neuronskim krugovima.....	23
5.5 Gama oscilacije.....	24
6. POREMEĆAJI GABA-ERGIČKE MREŽE U SHIZOFRENIJI.....	25
6.1 Promjene enzima vezanih uz funkciju GABA-e.....	26
6.2 MRS i PET nalazi.....	27
6.3 Uloge pojedinih podtipova interneurona u patofiziologiji gama oscilacija.....	28
6.4 PV interneuroni u prefrontalnom korteksu osoba oboljelih od shizofrenije.....	29
6.5 Dopaminska teorija i interneuroni.....	30
6.6 Perinatalni stres i disinhibicija.....	31
7. ZAKLJUČAK.....	32
8. ZAHVALE.....	33
9. LITERATURA.....	34
10. ŽIVOTOPIS.....	37

1. SAŽETAK

Uloga kortikalnih interneurona u patogenezi shizofrenije

Matija Vid Prkačin

Shizofrenija je psihijatrijska bolest koja se manifestira raznim simptomima poput deluzija, halucinacija i socijalnog udaljavanja. Iako je istraživački interes oko shizofrenije velik, te se u zadnjih nekoliko godina javio velik napredak u znanosti i tehnikama proučavanja mozga, znanstvenici i dalje nisu uspjeli definirati točne mehanizme nastanka shizofrenije. Jedan od potencijalnih mehanizama patogeneze shizofrenije je disfunkcija kortikalnih interneurona, odnosno disfunkcija sustava glavnog interneurona kojeg oni luče – gama-aminomaslačne kiseline (GABA-e). Studije rađene na osobama oboljelim od shizofrenije pružaju razne nalaze koji bi podupirali hipotezu da disfunkcija kortikalnih interneurona vodi raznim mehanizmima do razvoja shizofrenije. Nađen je smanjen broj sinapsi na tijelima kortikalnih interneurona (smanjen je input), nađena je manja količina enzima koji sintetiziraju GABA-u kao i njihove kodirajuće mRNA. Također su nađene i promijenjene količine GABA receptora u sinapsama koje kortikalni interneuroni čine (smanjen im je output). Slikovne metode prikaza mozga također ukazuju na određene abnormalnosti što se tiče morfologije, ali i funkcije određenih moždanih regija kod osoba oboljelih od shizofrenije. Takva saznanja bi jednog dana mogla imati klinički značaj u smislu detekcije patološki promijenjenih regija mozga koje bi trebale biti mjesto ciljane terapije.

Ključne riječi: interneuron, shizofrenija, GABA

2. SUMMARY

Role of cortical interneurons in pathogenesis of schizophrenia

Matija Vid Prkačín

Schizophrenia is a psychiatric disease that manifests with various symptoms, such as delusions, hallucinations and social withdrawal. Although research interest in schizophrenia is high, scientists are still unable to define exact mechanisms that lead to the development of the disease, in spite of breakthroughs in scientific methods. One of the potential pathogenetic mechanisms involves dysfunction of cortical interneurons, more precisely dysfunction of their main neurotransmitter – gamma-aminobutyric acid (GABA). Studies performed on patients suffering from schizophrenia offer some evidence that support the hypothesis that dysfunction of cortical interneurons leads to development of schizophrenia through various mechanisms. Decreased number of synapses on the membrane of cortical interneurons was found (lower input), followed with the decreased number of enzymes that lead to the GABA production as well as their encoding mRNA. Moreover, a decrease in GABA receptor density was found in synapses involving cortical interneurons (decreased output). Imaging methods also provide findings of abnormalities in both morphology and function of several regions of the brain in patients suffering schizophrenia. Such findings could potentially have therapeutic value in the future in means of highlighting pathological regions of the brain that should be a therapeutic target.

Key words: interneuron, schizophrenia, GABA

3. UVOD

Ljudski je mozak jedan od objekata proučavanja u humanoj biologiji koji najviše zapanjuje. Njegovo histološko ustrojstvo, mikro i makromorfologija, kao i funkcionalno ustrojstvo zaista fasciniraju bilo kojeg učenika, studenta ili istraživača koji ga proučava. Neke su funkcije mozga toliko kompleksne da ih ni dan danas, nakon i više desetljeća istraživanja, ne možemo u potpunosti razumjeti. Kako znanost napreduje te nalazimo nove načine istraživanja mozga i što više ulazimo u dubinu s razumijevanjem njegove funkcije, to više nailazimo na nove fenomene u njegovom funkcioniranju koji nam nisu jasni. Tako zapravo sve više shvaćamo koliko toga ni ne znamo o njenoj normalnoj funkciji, kao ni o njenoj patologiji koju vidamo u psihijatrijskim i neurološkim kliničkim entitetima.

Poremećaji u radu mozga mogu nastati uslijed ispada funkcije bilo koje od njegovih sastavnica. Većina neuroloških i psihijatrijskih poremećaja, poput shizofrenije, autizma i epilepsije, koji uključuju patologiju kore velikog mozga imaju u svojoj podlozi određenu razinu dezorganizacije GABA-ergičke mreže, moguće radi razvojnih poremećaja nastalih tijekom prenatalnog razdoblja. No, unatoč više od stoljeća istraživanja, ne možemo sa sigurnošću reći što točno uzrokuje shizofreniju. Većina teorija se bazira ili na višku ili na nedostatku određenih neurotransmitera, a u ovom diplomskom radu pružit će se pregled uloge GABA-ergičke sinaptičke mreže, a posebice kortikalnih interneurona, u razvoju shizofrenije.

4. SHIZOFRENIJA

Shizofrenija obuhvaća skupinu psihijatrijskih poremećaja koja pogađa oko 1% populacije te od nje godišnje oboli 1:10 000 osoba (1). Svim tim poremećajima zajednička je disfunkcija kognitivnih, emocionalnih te bihevioralnih funkcija (2). Zbog naravi bolesti, shizofrenija se često opisuje kao rascjep (grč. *skhizein*) duše, odnosno razuma (grč. *phrēn*). Taj rascjep zapravo označava ideoafektivnu disocijaciju, odnosno stanje u kojem su misli i osjećaji neusklađeni. Iako oboljeli od shizofrenije može zadržati relativno normalno funkcioniranje, nije usklađen s okolinom i vanjskim svijetom oko sebe; odnosno živi u nekom svom izoliranom i sumanutom svijetu (2). Točna definicija shizofrenije, kao i kriteriji za postavljanje dijagnoze, u nekoliko su se navrata mijenjali kako su izlazile novije verzije Međunarodne klasifikacije bolesti (ICD, odnosno hrvatska kratica MKB) i Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) (3). Posljednjih desetljeća klinička slika shizofrenije se za potrebe kliničkih istraživanja homogenizirala u 2 kategorije simptoma – shizofrenija s pretežno pozitivnim i shizofrenija s pretežno negativnim simptomima (4). Tu se još, dakako, ne smiju zanemariti i često prisutni kognitivni simptomi. Pozitivni simptomi su simptomi koji su „dodani“ ili predstavljaju distorziju normalnom funkcioniranju. Uključuju halucinacije, sumanutosti, poremećaje mišljenja te poremećaje govora (4). Negativni simptomi označavaju gubitak u odnosu na normalno funkcioniranje. Uključuju apatiju, abuliju, avoliciju, anhedoniju, autizam te afektivnu nivelaciju (4). Kognitivni simptomi su simptomi koji utječu na percepciju, snalaženje oboljelog u društvenoj okolini te na radnu sposobnost. Uključuju poremećaje radne memorije, poremećaje obrade senzornih signala iz osjetila te poremećaje viših kognitivnih funkcija (4).

4.1 Dijagnoza shizofrenije

Pri postavljanju dijagnoze F20 prema MKB-10, u koju spadaju shizofrenije i srodni poremećaji, nužno je voditi se ondje navedenim jasno definiranim dijagnostičkim kriterijima, koji između ostalog omogućuju da se taj klinički entitet razluči od drugih mu srodnih entiteta, poput organskih psihoza, shizoafektivnih stanja te drugih srodnih psihotičnih stanja (5).

MKB-10 svrstava razne simptome shizofrenije u sljedeće skupine:

Simptomi 1. skupine uključuju: nametanje ili oduzimanje misli, jeku ili emitiranje misli; sumanutosti kontrole, utjecaja ili pasivnosti koje se odnose na sumanute percepcije, specifične misli, akcije ili senzacije, tijelo ili pokrete; halucinatorne glasove koji komentiraju ponašanje oboljele osobe, međusobno razgovaraju o oboljeloj osobi ili ostale oblike halucinatornih glasova iz nekog dijela tijela; trajne bizarne sumanutosti koje su nemoguće ili nesukladne kulturi oboljele osobe i intelektualnoj razini, poput nemogućeg identiteta (političkog, znanstvenog, religioznog), nadljudske sposobnosti i moći, i tako dalje.

Simptomi 2. skupine uključuju: perzistentne halucinacije bilo kojeg modaliteta kad bivaju praćene prolaznim sumanutostima bez emocionalnog sadržaja, perzistentne precijenjene ideje, odnosno prisutnost halucinacija tijekom duljeg vremena (tjednima, mjesecima); disocirano mišljenje, neologizme, dezorganizirani govor koji je istovremeno irelevantan; katatono ponašanje (koje označava izrazitu ukočenost ili uzbuđenost); negativne simptome (apatiju, alogiju, afektivnu nivelaciju, socijalnu izolaciju); znatne i trajne promjene ponašanja (gubitak interesa, besciljnost, socijalno udaljšavanje, skretanje vlastite pažnje na sebe).

Da bi se prema MKB-10 postavila dijagnoza shizofrenije, nužno je da je barem jedan simptom iz prve skupine prisutan minimalno mjesec dana, odnosno da su barem dva simptoma iz druge skupine prisutni minimalno mjesec dana (4).

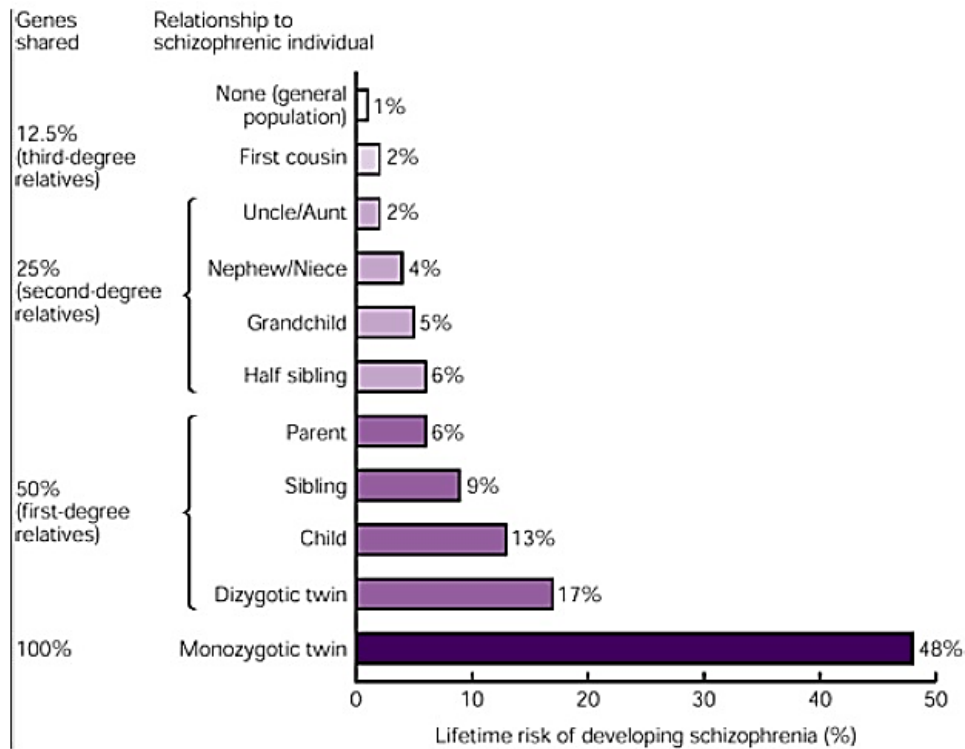
4.2 Etiologija shizofrenije

Etiologija shizofrenije, kao i njezina patogeneza, ostaje do dan danas prilično nerazjašnjena. Iako je općeprihvaćeno mišljenje da shizofrenija nastaje interakcijom gena i okolišnih čimbenika, točni mehanizmi koje ti čimbenici potiču nisu u potpunosti razjašnjeni. Predloženo je nekoliko hipoteza koje bi objasnile mehanizme koji dovode do bolesti, gdje većina od tih hipoteza nije međusobno isključiva.

4.2.1. Neurorazvojni model

Kao i većina drugih psihičkih bolesti, shizofrenija svoje uzroke nalazi i u genskim i u okolišnim čimbenicima. Jedan od dokaza za genski utjecaj shizofrenije je epidemiološka studija koja je uspoređivala pojavnost shizofrenije u pojedinim obiteljima, te u populaciji općenito (Slika 1) (6). Dvije studije provedene na jednojajčanim blizancima (čiji je genom teoretski identičan) i na usvojenoj djeci potvrđuju da je jedan od razloga te pojavnosti upravo utjecaj gena, a ne samo okolišnih čimbenika. Rezultati obju studija govore u prilog genetičkoj predispoziciji za shizofreniju – jednojajčani blizanac čiji je brat/sestra blizanac obolio od shizofrenije ima i sam daleko veći rizik za obolijevanje u odnosu na rizik opće populacije. Rizik da taj dosad neoboljeli brat/sestra blizanac također oboli od shizofrenije (engl. „concordance“) iznosi 45-48%. Također, usvojena djeca čiji su biološki srodnici oboljeli od shizofrenije imala su veći rizik za pojavu bolesti od usvojene djece u čijim biološkim

obiteljima nije bilo bolesti (6). Proučavajući pojavnost shizofrenije u pojedinim obiteljima može se zaključiti kako se shizofrenija nasljeđuje poligenski – nema jednog specifičnog alela čija bi mutacija automatski dovela do oboljenja (7).

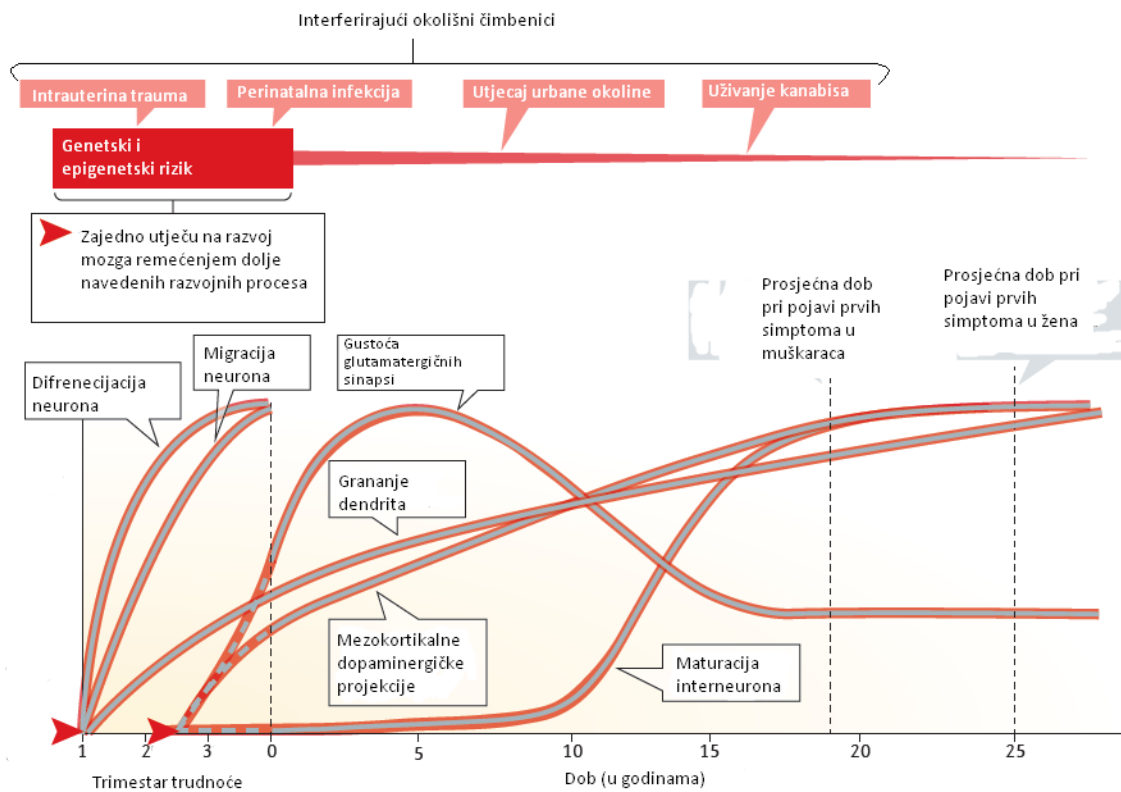


Slika 1 – učestalost shizofrenije kod bližih i daljnjih rođaka oboljelih od shizofrenije, te rizik opće populacije (genes shared = postotak identičnih alela u genomu; relationship to schizophrenic individual = obiteljska veza s oboljelim od shizofrenije; first-, second, third-degree relatives = srodnici prvog, drugog, trećeg stupnja; monozygotic twin = jednojajčani blizanac; dizygotic twin = dvojajčani blizanac; child = dijete; sibling = brat ili sestra; parent = roditelj; half-sibling = polubrat ili polusestra; grandchild = unuča; nephew/niece = nećak/nećakinja; uncle/aunt = (ujak ili stric)/teta; first cousin = prvi rođak; none (general population) = srodnosti nema (rizik opće populacije). Prema: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of Neural Science. 4. izd. New York: McGraw-Hill, 2000. slika 60-3, The lifetime risk for schizophrenia is correlated with genetic relatedness to a person with schizophrenia, str 1001.

Utjecaj okolišnih čimbenika na razvoj bolesti također nije zanemariv. Sama činjenica da se bolest ne javlja uvijek kod oba jednojajčana blizanca („concordance“ ne iznosi 100%) upućuje na to da i okolišni čimbenici utječu na pojavu shizofrenije (7). Najčešće spominjani okolišni čimbenici koji pridonose razvoju bolesti uključuju perinatalnu infekciju, perinatalne traume, infekcije u dojenačkom razdoblju i druge. Interakcija gena i tih negenskih noksi dovela je do prijedloga „modela dvaju udaraca“ koji dovode do razvoja shizofrenije. Iako je ovaj model predložio glavne uzroke shizofrenije, nije ponudio odgovor kako te nokse dovode do simptoma shizofrenije (6).

Neurorazvojni model shizofrenije, inicijalno predložen tijekom 1980-ih, zastupa ideju da se patološka zbivanja u mozgu događaju mnogo prije pojave samih simptoma. Temelj ovog modela su kohortne epidemiološke studije koje su pokazale korelaciju između perinatalnih zbivanja (infekcije u trudnoći, placentarna insuficijencija) i pojavljivanja shizofrenije kasnije u životu (8). Od 1980-ih do danas došlo je do nekolicine preinaka oko točnog vremena djelovanja štetnog agensa na mozak (prenatalno, perinatalno, u djetinjstvu, u doba adolescencije), frekvencije djelovanja štetnog agensa (jedan udarac, model dva udaraca, model više udaraca, stohastički kontinuum) te prirode samog štetnog agensa (7). Unatoč tome, glavna ideja modela je zadržana, te dokazana mogućom raznim animalnim studijama. Na slici su prikazane moguće djelujuće nokse u određenim razdobljima razvoja mozga, kao i specifični procesi razvoja koji se zbivaju u tim razdobljima (Slika 2). Ove su nokse dovedene u vezu s nastankom shizofrenije raznim epidemiološkim studijama. Vrijedi zapaziti da određene nokse mogu djelovati i desetljećima prije pojave prvih simptoma shizofrenije. Iako još nije jasna kritična doza određene nokse, potrebno vrijeme djelovanja te način na koji više noksi simultano interferira u razvoju shizofrenije, nesumnjivo jest da te nokse dovode do poremećaja razvoja mozga djelujući na procese migracije i

maturacije neurona u kritičnim regijama mozga (globus pallidus, prefrontalna kora, kora medijalnog dijela temporalnog režnja) (8).



Slika 2 – prikaz raznih okolišnih čimbenika koji udruženi s genetskom predispozicijom mogu negativno djelovati na jedan ili nekoliko procesa prikazanih krivuljama. X-os predočava životnu dob (najprije gestacijsku, a potom dob nakon rođenja u godinama), dok Y-os predočava u kolikoj mjeri (od maksimalne) se određeni proces odvija. Slika modificirana prema: Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia; Rebecca Birnbaum, Daniel R. Weinberger; 2017.

4.2.2 Strukturalne i funkcijske promjene mozga u shizofreniji

Većina rezultata istraživanja dobivenih primjenom tehnika vizualizacije mozga (koje uključuju kompjutoriziranu tomografiju (CT) te magnetsku rezonanciju (MR)) te tehnika kojima možemo pratiti moždanu funkciju (metode poput pozitronske emisijske tomografije (PET) i kompjutorizirane tomografije emisijom pojedinačnog fotona (SPECT)), kao i rezultati postmortalnih istraživanja na oboljelima od shizofrenije, govore u prilog već spomenutoj neurorazvojnoj hipotezi nastanka shizofrenije. Većina nalaza CT-a mozga osoba oboljelih od shizofrenije pokazuje povećanje ventrikularnog sustava (specifično lateralnih i treće moždane komore), kao i atrofiju moždane kore. Temeljem tih nalaza, neki su autori podijelili osobe oboljele od shizofrenije u dvije skupine – na skupinu u kojoj se nalaze spomenute morfološke promjene, u kliničkoj slici prevladavaju negativni simptomi, a bolesnici slabije reagiraju na farmakoterapiju; te na skupinu gdje se ne nalaze CT-anomalije mozga, u kliničkoj slici prevladavaju pozitivni simptomi, a osobe dobro reagiraju na farmakoterapiju (9-11).

Neke metaboličke studije istraživale su regionalni protok krvi u određenim dijelovima mozga, pri čemu su dobiveni različiti rezultati koji upućuju na moguću disfunkciju frontalnog režnja u osoba oboljelih od shizofrenije. Istraživanja koja su se služila PET-om kao metodom prikazala su smanjeni metabolizam u frontalnom i parijetalnom režnju mozga, kao i razmjerno povećani metabolizam u stražnjim regijama mozga (9-11).

Najučestalije strukturalne promjene nađene u mozgu osoba oboljelih od shizofrenije, uz već spomenuto povećanje ventrikulskog sustava, uključuju proširenje sulkusa, smanjenje cerebralnog i intrakranijalnog volumena te smanjenje pojedinih regija mozga poput hipokampusa, temporalnog i frontalnog režnja. Nalaz ventrikularnog povećanja vjerojatno je najutemeljeniji nalaz u biologijskoj psihijatriji, a potvrđen je u

oko 80% učinjenih studija. Tehnike funkcionalnog prikazivanja mozga mogu izmjeriti nekoliko pokazatelja živčane aktivnosti, kao što su regionalni cerebralni protok krvi (rCPK), regionalni metabolizam glukoze, korištenje kisika te neurokemijski metabolizam. Istraživanja na osobama oboljelim od shizofrenije pokazala su smanjen rCPK u prefrontalnom korteksu, stanje koje se opisuje i kao prefrontalna disfunkcija. No, prefrontalna se disfunkcija katkada ne očituje sve dok se ne poveća metabolička potreba mozga, odnosno razina aktivnosti u toj regiji. Dokaz koji potkrepljuje hipotezu prefrontalne disfunkcije u osoba oboljelih od shizofrenije pružaju neuropsihologijska ispitivanja. Uočeno je da oboljele osobe koje imaju leziju u frontalnom režnju mozga s teškoćom izvode neuropsihologijske testove u kojima nalazimo porast aktivnosti frontalnog režnja, kao što su Wisconsin Card Sorting test (koji ispituje fleksibilnosti u rješavanju problema) te Tower of London test (koji ispituje strategije planiranja). Nalazi funkcionalnih studija učinjenih tijekom izvođenja ovih testova koreliraju sa stupnjem smanjenja aktivacije frontalnog korteksa (9-11).

4.2.3 Neurobiokemijske hipoteze o nastanku shizofrenije

Mozak je organ čije se funkcioniranje bazira na sinaptičkoj aktivnosti čiji su medijatori razni neurotransmiteri. Poremećaj bilo kojeg neurotransmiterskog sustava može dovesti do raznih poremećaja moždane aktivnosti. Za poremećaje koji se javljaju u shizofreniji detektirano je nekoliko raznih neurotransmiterskih sustava čiji bi ispadi mogli voditi do pojave shizofrenije.

Dopaminska hipoteza shizofrenije tumači kako poremećaji u neurotransmisiji dopamina (DA) mogu dovesti do razvoja bolesti. Jedan od argumenata te hipoteze jest činjenica da dopaminski agonisti poput levodope ili amfetamina mogu izazvati

paranoidnu psihozu. Također, prve generacije antipsihotika, koje djeluju uglavnom na pozitivne simptome bolesti, svoje učinke ostvaruju blokadom dopaminskih receptora. Smatra se kako se pozitivni simptomi shizofrenije javljaju uslijed hiperfunkcije dopaminskog sustava u mezolimbičkim strukturama, a negativni uslijed hipofunkcije dopaminskog sustava, i to prvenstveno u frontalnom korteksu (9,11).

Serotoninska (5-HT) hipoteza shizofrenije bazira se na učinku koji ima jedan od agonista serotoninskih 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C} receptora, a to je dietilamid lizergične kiseline, odnosno LSD. Naime, njegova stimulacija 5-HT_{2A} i/ili 5-HT_{2C} receptora ima halucinogen učinak nalik na pozitivne simptome shizofrenije. Upravo se 5-HT₂ receptori smatraju najbitnijima za patogenezu shizofrenije. Za te se receptore vjeruje da moduliraju aktivnost dopaminskog sustava te da igraju važnu ulogu u funkciji ponašanja. Tu teoriju podupire i činjenica da antipsihotici 2. generacije (atipični antipsihotici), koji dobro djeluju na negativne simptome shizofrenije (za razliku od tipičnih), svoje učinke ostvaruju blokadom serotoninskih i dopaminskih receptora, s naglaskom da je njihov afinitet puno veći za 5-HT receptore (9,11).

Noradrenergička hipoteza razvoja shizofrenije temelji se na nalazima koji ukazuju na moguću vezu između hipofunkcije noradrenergičke neurotransmisije u sustavu nagrađivanja te simptoma poput anhedonije. Neka istraživanja također ukazuju na moguću hiperfunkciju noradrenergičkog sustava. Ta istraživanja su ukazala na povećanu količinu MHPG-a (jedan od metabolita noradrenalina) u postmortalno uzetim uzorcima od osoba koje su bolovale od shizofrenije (9,11).

Hipoteza da poremećaji u sustavu ekscitacijskih aminokiselina (prvenstveno aspartata i glutamata) dovode do shizofrenije temelji se na zapažanjima da antagonizam jednog od njihovih receptora izaziva simptome slične shizofreniji. Radi se o NMDA (n-metil-D-aspartat) receptoru, a tvar koja ga antagonizira je fenciklidin (PCP). PCP psihoza se

manifestira poremećajima mišljenja, halucinacijama, kognitivnim deficitom te negativnim simptomima. Ujedno se javlja i smanjen metabolizam u frontalnom korteksu pri akutnoj intoksikaciji PCP-om, što nalikuje nalazu hipofrontalnosti u shizofreniji (9,11).

GABA (gama-aminomaslačna kiselina) kao dominantni inhibicijski neurotransmiter također može svojom disfunkcijom voditi do nastanka shizofrenije. Smanjena aktivnost GABA sustava može dovesti do disinhibicije GABA-om reguliranih neurona, odnosno pojačati aktivnost dopaminergičkih i drugih neurona (9,11).

5. FUNKCIONALNO USTROJSTVO NEURONA U SREDIŠNJEM ŽIVČANOM SUSTAVU

Živčani sustav ne čini nasumična skupina neurona i njihovih sinapsi, već je to vrlo skladan sustav jasnog ustrojstva i reguliran na više razina.

Neuralne mreže nastaju kao posljedica složene interakcije između genskih i okolišnih čimbenika čija interakcija regulira proliferaciju, migraciju i diferencijaciju neurona te stvaranje i eliminaciju sinapsi tijekom prenatalnog i postnatalnog razvoja. Okolišne nokse, poput hipoksije, infekcija te ostalih štetnih čimbenika, mogu utjecati na normalno formiranje kortikalnih krugova i mreža te rezultirati različitim morfološkim promjenama koje bi vodile do neuropsihijatrijske patologije.

Neurone kore velikog mozga možemo podijeliti u dvije osnovne skupine – glutamatergičke ekscitacijske te GABA-ergičke inhibicijske neurone (12). Glutamatergičke ekscitacijske neurone se najčešće još naziva i piramidnim neuronima zbog piramidnog oblika njihove soma na presjecima mozga. S druge strane, za GABA-ergičke kortikalne neurone uvriježio se termin interneuroni.

5.1 Piramidni neuroni

Piramidni neuroni čine približno 70% svih kortikalnih neurona. Smješteni su poglavito u slojevima II, III te V moždane kore (13). Dendriti piramidnih neurona na svojoj površini sadrže mnoštvo dendritičkih trnova. Akson piramidnih neurona usmjeren je prema bijeloj tvari te se projicira ili u druga područja moždanog korteksa (kortiko-kortikalne projekcije) ili u druge strukture živčanog sustava, poput moždanog debla, malog

mozga ili kralježničke moždine (kortiko-subkortikalne projekcije). Dosad navedena neurotransmitterska svojstva (luče glutamat koji vodi do ekscitacije drugih neurona), prisutnost dendritičkih trnova te daleke projekcije njihovih aksona spadaju u glavna obilježja ove populacije neurona (12).

5.2 Interneuroni

Interneuroni čine 15-30% svih kortikalnih neurona te se smješteni u svim slojevima kore velikog mozga. Uz glavni neurotransmitter GABA-u oni još sintetiziraju i razne neuropeptide kao i proteine koji vežu kalcij (13). Kako je uglavnom riječ o inhibicijskim neuronima, u njemačkoj neuroanatomskoj literaturi naziva ih se „stanice-sklopke“ (njem. *Schaltzellen*). Kratki akson interneurona grana se u izravnoj okolini neurona te oni sudjeluju u funkcioniranju lokalnih neuronskih krugova (14).

Iako čine samo manji dio ukupnog broja neurona, uspostavljajući sinapse s različitim dijelovima tijela i dendrita projekcijskih neurona kao i drugih interneurona, imaju ključnu ulogu u regulaciji aktivnosti lokalnih neuralnih krugova te većih neuralnih mreža (15,16).

5.2.1 Razvoj i migracija interneurona

U tijeku ranog fetalnog razdoblja u majmuna i čovjeka većina GABA-ergičkih neurona migrira od mjesta svog nastanka tangencijalno prema svojoj konačnoj destinaciji prateći urastajuće aksone te tvoreći sljedove nakupljenih migrirajućih neurona. Kako nalazimo razne skupine kortikalnih interneurona, nalazimo i različita razvojna porijekla istih te ujedno i različite migratorne puteve koje koriste do svog odredišta. S obzirom

da se u mozgu majmuna i čovjeka produljeno stvaraju GABA interneuroni, migracija tih neurona predstavlja iznimno osjetljiv i složen događaj. Taj događaj upravo predstavlja i proces na koji mogu djelovati razne patogene nokse i poremećajem dovesti do neuroloških i psihijatrijskih bolesti, poput epilepsije i shizofrenije (17).

5.2.2 Vrste interneurona

Interneuroni čine izrazito heterogenu skupinu neurona te se klasificiraju na razne podtipove u odnosu na njihovu elektrofiziologiju, morfologiju i biokemijska svojstva.

Najprihvatljivija klasifikacija je ona koja dijeli interneurone na podtipove s obzirom na ekspresiju specifičnih genskih produkata. Tako razlikujemo interneurone koji produciraju proteine koji vežu kalcij poput parvalbumina (PV), kalretinina (CR) te kalbindina (CB). Također neki interneuroni proizvode specifične neuropeptide poput somatostatina (SST), kolekistokinina (CCK) te vazoaktivnog intestinalnog polipeptida (VIP) (18,19).

Studije su također pokazale da se interneuroni ne razlikuju samo po ekspresiji specifičnih proteina, već i po morfološkim značajkama te mjestima gdje tvore sinapse s drugim neuronima. Piramidni neuroni imaju veliku količinu sinapsi na svojim raznim dijelovima – na somi, dendritima, dendritičkim trnovima, inicijalnom segmentu aksona. Zanimljivo je zapaziti kako je velika količina tih sinapsi GABA-ergička te da specifični podtipovi interneurona tvore sinapse na uvijek istim specifičnim dijelovima membrane piramidnog neurona. Tako aksosomatske sinapse formiraju parvalbuminski i kolekistokininski interneuroni. Njihove sinapse s tijelom piramidne stanice nalikuju na košare, te se stoga ovi interneuroni nazivaju parvalbuminski, odnosno kolekistokininski košarasti (*basket*) interneuroni. Za razliku od njih, interneuroni čije projekcije i sinapse

nalikuju na svijeće (stoga se takav interneuron i naziva svijećastim, *chandelier*) formiraju primarno aksoaksonske sinapse, odnosno formiraju sinapse s inicijalnim segmentom aksona piramidnog neurona. Konačno, interneuroni koji čine aksodendritičke sinapse nazivaju se stanice „dvostrukog buketa“ (*double bouquet*) te stanice „aksonskog čuperka“ (*axon tuft*). Zanimljivo je također zapaziti da stanice „dvostrukog buketa“ formiraju sinapse i s drugim podtipovima interneurona te bi te sinapse zapravo mogle biti disinhibicijske naravi (18,20).

Opisane razlike u projekcijama različitih podtipova interneurona snažno podupiru tezu da svaki podtip interneurona na različit način doprinosi i fiziološkim i patološkim zbivanjima u mozgu (20).

5.2.3 Gama-aminomaslačna kiselina

Gama-aminomaslačna kiselina (GABA) je jedan od najčešćih inhibitornih neurotransmitera. Sinteza GABA-e se odvija dekarboksilacijom glutamata pomoću enzima dekarboksilaza glutaminske kiseline (nadalje zvana GAD, prema engleskom „glutamic acid decarboxylase“). Postoje 2 izotipa tog enzima koji su različite molekularne težine – 65kDa težak izotip GAD65 i 67kDa težak izotip GAD67. Svaki od tih izotipova vezan je uz drugi aspekt fiziologije GABA-e. Uloga GAD65 jest brza sinteza GABA-e tijekom razdoblja velike sinaptičke aktivnosti. Taj izoenzim nalazimo u završecima aksona i membranama sinaptičkih mjehurića te je vezan uz skladištenje GABA-e u sinaptičke mjehuriće te vezikularno otpuštanje GABA-e. GAD67 zadužen je za bazalnu sintezu GABA-e te vrši između 80 i 90% ukupne sinteze. Lociran je u citosolu neurona te je vezan uz nevezikularno otpuštanje GABA-e (21).

Nakon sinteze na presinaptičkom elementu GABA se pohranjuje u sinaptičke mjehuriće (vezikule) preko vezikularnog transportera za GABA-u (VGAT). Dolaskom akcijskog potencijala do presinaptičkog elementa te ulaskom iona Ca^{2+} događa se fuzija sinaptičkih mjehurića s presinaptičkom membranom te se GABA otpušta u sinapsu vezikularnim otpuštanjem. U slučaju iznimno snažne depolarizacije ili poremećene ionske homeostaze, specifični GABA membranski transportni proteini (GAT) mogu promijeniti smjer svog djelovanja te izbacivati GABA-u u sinaptičku pukotinu nevezikularnim mehanizmom (21).

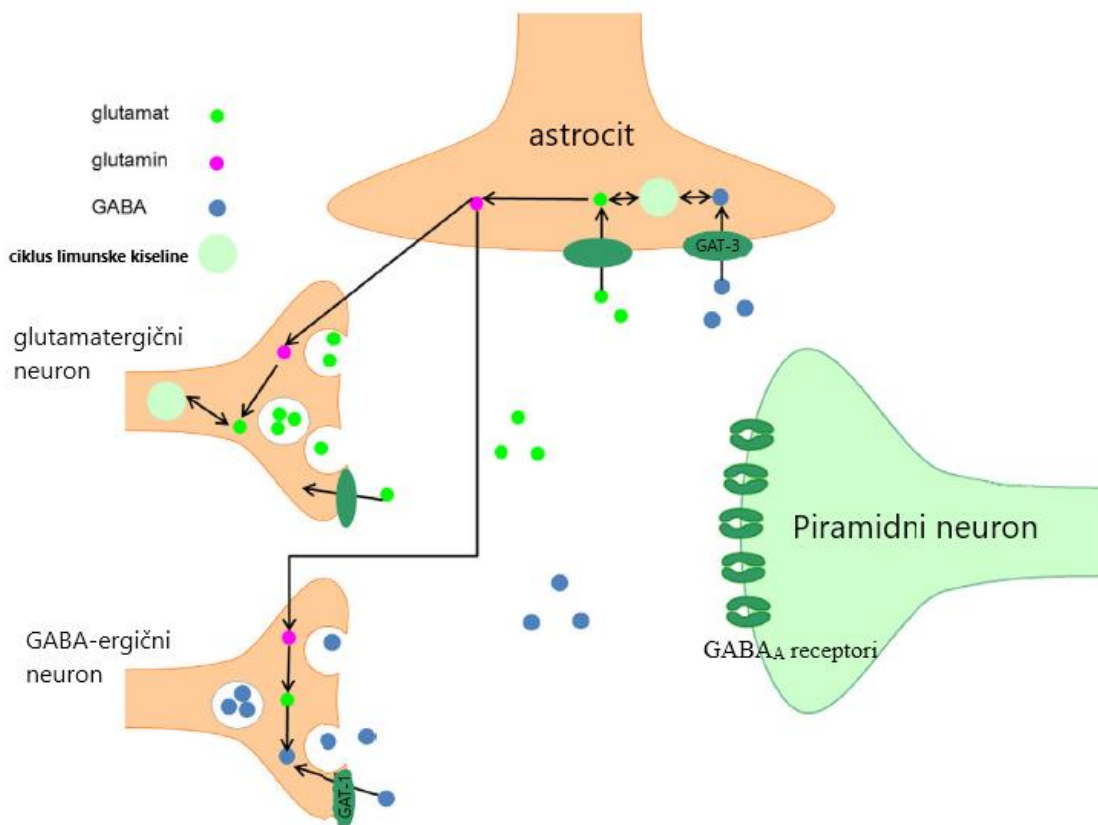
Nakon otpuštanja u sinaptičku pukotinu GABA svoje učinke postiže vezanjem za svoje receptore – $GABA_A$ receptore i $GABA_B$ receptore. Ovdje su detaljno opisani $GABA_A$ receptori budući da GABA upravo preko njih vrši većinu svojih fizioloških funkcija. Taj podtip receptora je Cl^- ionski kanal aktiviran ligandom koji ima pentamernu strukturu (čini ga 5 podjedinica). Različite obitelji gena kodiraju različite podjedinice tog receptora (α , β , γ , δ , ϵ , π te θ podjedinicu). Neke od tih podjedinica imaju nekoliko izoformi, na primjer α podjedinica ima izoforme α_1 , α_2 , α_3 , α_4 , α_5 i α_6 . Najčešće strukturu receptora čine dvije α podjedinice (najčešće α_1 i α_2), dvije β podjedinice te preostala podjedinica koja je najčešće γ ili δ (21).

$GABA_A$ receptori koji sadrže α_1 podjedinicu zaduženi su za brz pad potencijala, odnosno hiperpolarizaciju (brzi IPSP). Receptori s tom podjedinicom dominiraju u sinapsama s parvalbuminskim košarastim interneuronima. Za razliku od α_1 -vezane neurotransmisije, $GABA_A$ receptori koji sadrže α_2 podjedinicu zaduženi su za sporiji pad membranskog potencijala (spori IPSP). Takve sinapse su većinom između svijjećastih (*chandelier*) interneurona i piramidnih neurona (19).

Sinaptička aktivnost GABA-e prekida se nakon ponovnog unosa molekule u neurone ili gliju preko transportnih proteina. U ljudi nalazimo 4 vrste transportnih proteina, GAT-

1, GAT-2, GAT-3 te betainski GABA transporter (BGT-1). GAT-1 je naširoko prisutan u mozgu, prije svega na presinaptičkoj membrani GABA-ergičkih neurona. Taj transporter zadužen je za većinu ponovnog unosa GABA-e. GAT-3 je zadužen za unos GABA-e u lokalne astrocite, dok GAT-2 i BGT-1 igraju malu ulogu u GABA-ergičkoj transmisiji (21).

Nakon ponovnog unosa u neuron, GABA može biti ponovno pohranjena u sinaptički mjehurić ili se razgrađuje enzimom GABA-transaminaza. Kao produkt nastaje sukcinat semialdehid koji se oksidira u sukcinat i ulazi u ciklus limunske kiseline gdje se kasnije konvertira u glutamat. Kasnija konverzija glutamata u GABA-u preko GAD65 ili GAD67 zatvara ciklus GABA-e. Slika 3 pokazuje metabolizam GABA-e (21).



Slika 3 – metabolizam GABA-e. Nakon sinteze na presinaptičkom završetku neurona, GABA se pohranjuje u sinaptičkim mjehurićima preko transportera na vezikularnoj membrani (VGAT). Nakon ispuštanja u sinaptičku pukotinu GABA se veže za GABA_A receptore te tako ostvaruje svoje učinke. Sinaptička aktivnost GABA-e se prekida ponovnim unosom GABA-e u neuron preko transportnog proteina GAT-1, odnosno u astrocit preko GAT-3. Nakon ponovnog unosa GABA se ili ponovno pohranjuje u sinaptičke mjehuriće ili se metabolizira u sukcinat, koji ulazi u ciklus limunske kiseline te se metabolizira u glutamat, direktni prekursor GABA-e. Slika modificirana prema: de Jonge JC, Vinkers CH, Hulshoff Pol HE, Marsman A. GABAergic mechanisms in schizophrenia: Linking postmortem and In vivo studies. Front Psychiatry. 2017;8(AUG):118.

5.3 Postsinaptički potencijali – EPSP i IPSP

Posljedica kretanja iona kroz otvorene ionske kanale je pojava ionske struje što (ovisno o naravi i smjeru kretanja iona) depolarizira ili hiperpolarizira staničnu membranu. I u središnjem i u perifernom živčanom sustavu, većina postsinaptičkih potencijala nastaje zbog povećanja ionske vodljivosti postsinaptičke membrane.

Nastanak ekscitacijskog postsinaptičkog potencijala (EPSP) posljedica je otvaranja kationskih receptora-kanala. Time se povećava vodljivost membrane za određene katione. Tijekom akcijskog potencijala, Na^+ i K^+ kreću se kroz različite naponske kanale u različito vrijeme. Najprije dolazi do otvaranja naponskih Na^+ -kanala čime membrana nakratko povećava propusnost za natrij, a to dovodi do depolarizacije. Potom se otvaraju naponski K^+ -kanali, odnosno povećava se propusnost membrane za kalij što dovodi do repolarizacije (14).

Inhibicijski neurotransmiteri (npr. GABA i glicin) hiperpolariziraju postsinaptičke membrane većine centralnih neurona tako što otvaraju Cl^- kanale koji su integralni dio odgovarajućih ionotropnih receptora. Tako nastaju hiperpolarizirajući inhibicijski postsinaptički potencijali (IPSP). No, aktivacija inhibicijskih ionotropnih receptora ima još jednu značajnu ulogu: smanjivanje EPSP-a izazvanih aktivacijom ekscitacijskih postsinaptičkih receptora. Valja reći da se u nekim slučajevima inhibicijski učinak postiže i aktivacijom inhibicijskih metabotropnih receptora, što posredno (preko unutarstaničnih drugih glasnika) otvaraju naponske K^+ -kanale u staničnoj membrani postsinaptičkog neurona (i time je hiperpolariziraju zbog nastanka K^+ -struje prema van) (14).

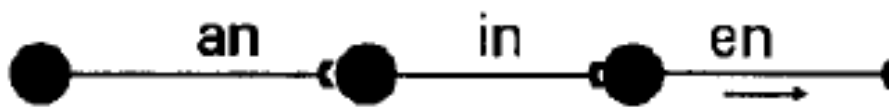
Hoće li potencijal membrane doći do praga okidanja (odnosno do okidanja akcijskog potencijala) ovisi o prostornoj i vremenskoj sumaciji EPSP-a i IPSP-a.

5.4 Neuronski krugovi i mreže

Postojanje sinapsi ne omogućuje samo vezu dva nasumična neurona, već i nudi mogućnost formiranja većih funkcionalnih jedinica, poput neuronskih krugova (14). Neuronski krug se definira kao organizacija neurona u određene obrasce koji omogućuju procesiranje informacije u zadanoj regiji mozga (22). Neuronski krugovi se međusobno povezuju kako bi oformili još i veće funkcionalne jedinice – neuronske mreže (23). Među osnovne neuronske funkcionalne jedinice spadaju jednostavni „zatvoreni“ neuronski krugovi povratne sprege te jednostavni otvoreni krugovi neurona (14), koje je potrebno detaljnije proučiti radi boljeg razumijevanja većih funkcionalnih jedinica.

5.4.1 Jednostavni neuronski krugovi s umetnutim interneuronima

Najjednostavniji oblik povezivanja neurona je monosinaptički refleksni krug, tj. niz sastavljen od samo 2 neurona (jednog aferentnog i jednog eferentnog) i 1 sinapse što ih spaja. Sličan, ali malo složeniji sustav nastaje umetanjem interneurona između aferentnog i eferentnog (ciljnog) neurona (Slika 4). Ključno obilježje ovog „otvorenog“ oblika neuronskog povezivanja je da postoji lanac sinaptički povezanih neurona gdje niti jedan od njih nije povratnim aksonskim kolateralama (izravno ili neizravno) povezan s prethodnim neuronima dotičnog niza (14).



Slika 4 – primjer jednostavnog neuronskog kruga otvorenog tipa sastavljen od tri neurona (afherentnog, eferentnog te umetnutog interneurona) te dvije sinapse; an = afherentni neuron, en = eferentni neuron, in = interneuron. Prema: Judaš M, Kostović I. Temelji neuroznanosti. Zagreb: MD; c1997. Slika 12-2, Shematski prikaz nekih vrsta neuronskih nizova, neuronskih krugova i neuronskih mreža; str 139.

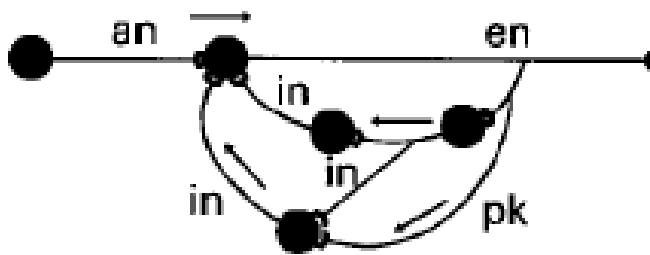
Jednostavni „zatvoreni“ neuronski krugovi temelje se na postojanju rekurentnih kolaterala i inhibicijskog interneurona. Najjednostavniji oblik zatvorenog neuronskog kruga nastaje kad eferentni neuron rekurentnom kolateralom svog aksona ekscitira interneuron, koji potom najčešće inhibira dotični eferentni neuron (slika 5). U takvom krugu, interneuron služi kao povratna veza (*feedback*) usmjerena na prethodni neuron u nizu (pa stoga i zatvara krug). Vrijedi zapaziti da u ovakvom tipu neuronskog kruga eferentni neuron (posredstvom interneurona) može modulirati vlastitu aktivnost (14).



Slika 5 – primjer jednostavnog neuronskog kruga zatvorenog tipa sastavljen od tri neurona u kojem eferentni neuron preko svoje aksonske kolaterale i posredstvom interneurona modulira vlastitu aktivnost; an = aferentni neuron, en = eferentni neuron, in = interneuron, pk = povratna kolateralna. Prema: Judaš M, Kostović I. Temelji neuroznanosti. Zagreb: MD, c1997. Slika 12-2, Shematski prikaz nekih vrsta neuronskih nizova, neuronskih krugova i neuronskih mreža; str 139.

5.4.2 Složeni oblici zatvorenih neuronskih krugova povratne sprege

Oblik funkcionalne povezanosti neurona koji nalazimo u gotovo svim moždanim sustavima je tzv. zatvoreni neuronski krug s umetnutim višestrukim usporednim nizovima interneurona (Slika 6). U ovakvom sustavu zatvoreni multisinaptički lanci neurona oblikuju povratne (*feedback*) krugove koji omogućuju kruženje signala kroz mrežu, pa se tako može prilagodljivo povećavati ili smanjivati stupanj ekscitabilnosti različitih neurona koji su dijelovi tog sustava (14).



Slika 6 – primjer „pravog“ neuronskog kruga zatvorenog tipa (*feedback* krug). U ovom krugu aferentni neuron djeluje na eferentni neuron, no i sam eferentni neuron utječe na taj sinaptički prijenos preko svojih aksonskih kolaterala te niza umetnutih interneurona. Prema: Judaš M, Kostović I. Temelji neuroznanosti. Zagreb: MD, c1997. Slika 12-2, Shematski prikaz nekih vrsta neuronskih nizova, neuronskih krugova i neuronskih mreža; str 139.

5.4.3 Disinhibicija u neuronskim krugovima

Kao što je već spomenuto, interneuroni većinu svojih sinapsi ostvaruju s piramidnim neuronima te inhibiraju njihovu aktivnost. No, dio kortikalnih GABA-ergičkih neurona se projicira na druge GABA-ergičke neurone te je njihov konačan učinak na piramidne neurone zapravo disinhibicija (13). Disinhibicija dendritičkog stabla dovodi do veće vjerojatnosti integriranja EPSP-a u dendritima piramidnog neurona te njihovog provođenja do njegove some. Time se povećava vjerojatnost pojave akcijskih potencijala u piramidnim neuronima te njihova okidanja (12).

Disinhibiciju je najbolje razjasniti kroz primjer bazalnih ganglija. Neuroni kore mozga (kortikostrijatalni neuroni; neuron A) su ekscitacijski i aktivirat će neurone strijatuma (neuron B). Neuroni strijatuma su inhibicijski te inhibiraju neurone unutarnjeg

segmenta paliduma (neuron C). No i neuroni unutarnjeg segmenta paliduma su inhibicijski te vrše inhibiciju na neuronima motoričke jezgre talamusa (neuron D), a neuroni motoričke jezgre talamusa ekscitiraju neurone kore mozga (neuron A). Dakle, neuron C trajno inhibira neuron D; no kada neuron B bude ekscitiran (od strane neurona A), neuron B će vršiti inhibiciju na inhibitornom neuronu C, čime neuron D više neće biti inhibiran, odnosno moći će ekscitirati neuron A. Stoga kažemo da je neuron D „disinhibiran“. Ukratko, „disinhibicija“ označava „inhibiciju inhibitora“ što vodi do „oslobađanja“ (dotad „zauzdanog“) ciljnog neurona. Takve se pojave često označavaju i kao pojave oslobađanja (engleski *releasing phenomena*) (14).

5.5 Gama oscilacije

Funkcioniranje radne memorije povezano je uz oscilacije gama frekvencija (30-80 Hz) u prefrontalnom korteksu. Gama oscilacije zapravo predočavaju sinkrono okidanje velikih grupa piramidnih neurona (24). Snaga gama oscilacija se u normalnim uvjetima pojačava proporcionalno s pojačanjem aktivnosti radne memorije

Hipoteza da GABA interneuroni igraju važnu ulogu u generiranju gama oscilacija postavljena je nakon farmakoloških nalaza kako stimulacija gama interneurona ili blokada GABA_A receptora dovodi do povećanja ili smanjenja aktivnosti gama oscilacija *in vitro* (19).

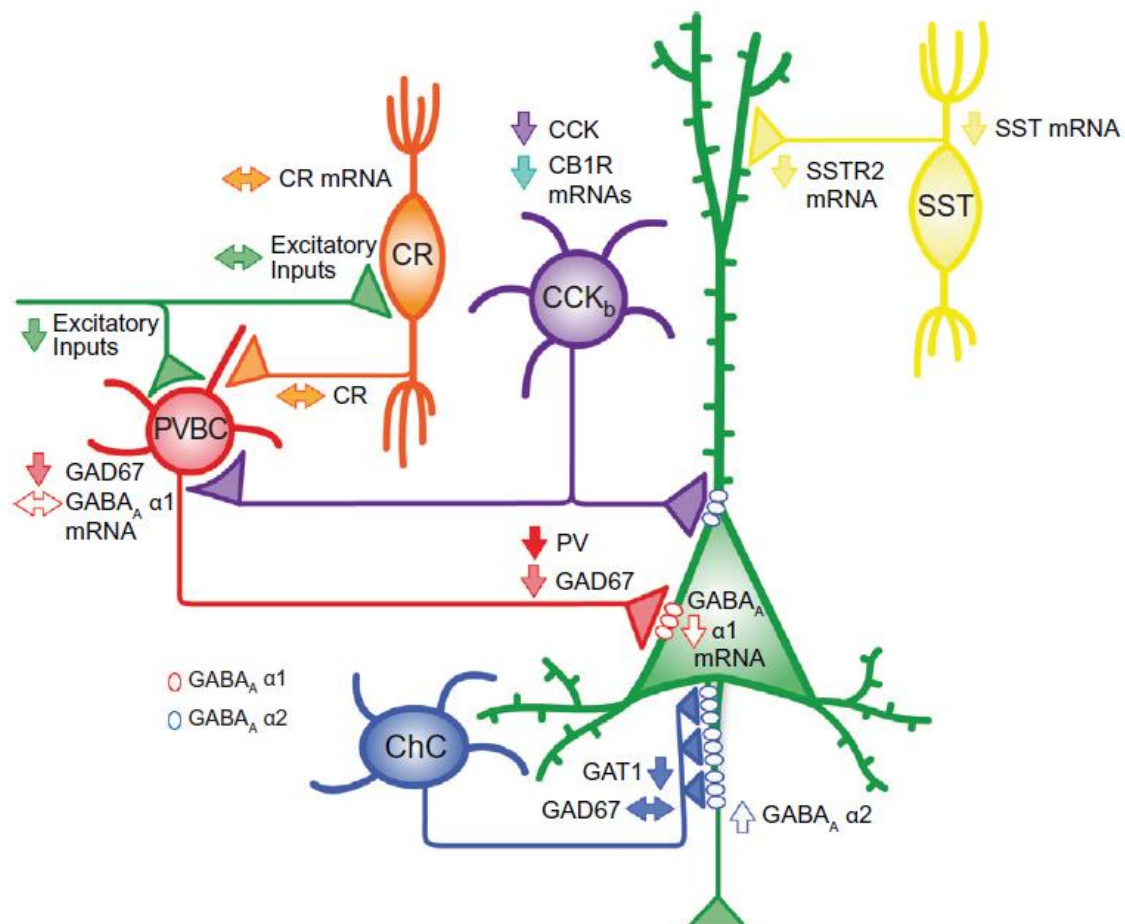
Osobe oboljele od shizofrenije pokazuju smanjeno pojačanje snage gama oscilacija kao odgovor na povećanu aktivnost radne memorije (19).

Uzevši sve u obzir, može se zaključiti da bi upravo disfunkcija GABA interneurona mogla igrati ključnu ulogu u smanjenoj snazi gama oscilacija, odnosno u poremećajima radne memorije (19).

6. POREMEĆAJI GABA-ERGIČKE MREŽE U SHIZOFRENIJI

Kortikalni GABA-ergički interneuroni moduliraju aktivnost kortikalnih i hipokampalnih neuronskih mreža njihovom inhibicijom, odnosno disinhibicijom. Također, imaju vrlo bitnu ulogu u generiranju gama oscilatorne aktivnosti korteksa mozga, u obradi informacija te u kontroli prijenosa senzornih informacija kortikolimbickim sustavom (20). Nađen je poremećaj svih navedenih funkcija u shizofreniji, čime se može zaključiti da upravo ti interneuroni igraju bitnu ulogu u samoj patogenezi bolesti.

Slika 7. pruža prikaz raznih podtipova interneurona te njihove promjene u osoba oboljelih od shizofrenije.



Slika 7 – prikaz kortikalnih interneurona te promjene na njima nađene postmortalnim studijama na osobama koje su bolovale od shizofrenije. Strelice pored pojedinih gena ukazuju na povećanu, smanjenu ili nepromijenjenu ekspresiju istih. PVBC = parvalbuminski košarasti interneuroni, Chc = parvalbuminske svijjećaste stanice, SST = somatostatinski interneuroni, CCKb = kolekistokininski košarasti interneuroni, CR = kalretininski interneuroni. „Excitatory inputs“ = ekscitacijski podražaji. Zelene stanice = piramidni neuroni. Prema: Diemel SJ, Lewis DA. Alterations in cortical interneurons and cognitive function in schizophrenia. *Neurobiol Dis.* 2019;131:104208.

6.1 Promjene enzima vezanih uz funkciju GABA-e

U shizofreniji nalazimo smanjenu količinu mRNA koja kodira GAD67 u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu što vodi do manje količine dostupnog GAD67 enzima i konačno niže koncentracije GABA-e u neuronu. S druge strane, nalazimo i povećanu količinu $\alpha 2$ -podjedinica GABA_A receptora, što dovodi do zaključka da u shizofreniji nalazimo povećanu količinu GABA_A receptora do koje vjerojatno dolazi zbog manje dostupne GABA-e u sinapsi (engl. *upregulation*). Također, dolazi i do smanjene ekspresije GAT-1 membranskog transportera, koja se također vjerojatno javlja uslijed manje dostupne GABA-e u sinapsi.

Tu teoriju podupiru i studije na miševima kojima je izbačen gen za GAT-1. Naime, kod tih miševa nije nađena smanjena količina GAD67 kodirajuće mRNA. Ta spoznaja ukazuje da je smanjenje GAD67 kodirajuće mRNA bila inicijalni događaj u patofiziološkom procesu. Ulogu GABA-e u patogenezi shizofrenije podupire i studija gdje su miševima davani farmakološki blokatori GABA_A receptora. Ti su miševi razvili kognitivne poremećaje slične onima u shizofreniji – poremećaje radne memorije (21).

6.2 MRS i PET nalazi

Spektroskopija magnetnom rezonancijom (MRS) jedna je od metoda mjerenja ukupne koncentracije GABA-e in vivo. Studije su pokazale da koncentracija GABA-e u prefrontalnom korteksu korelira s kapacitetom radne memorije – niže vrijednosti GABA-e u prefrontalnom korteksu su pretkazivale slabije rezultate u testiranjima koja zahtijevaju veću aktivnost radne memorije. S tim u vezi, koncentracija GABA-e u prefrontalnom korteksu raste u zdravih pojedinaca u situacijama koje zahtijevaju veću aktivnost radne memorije (19).

U novijim studijama znanstvenici su koristili jača magnetska polja (7 T) tijekom MRS-a kako bi bolje razlikovali GABA-u od drugih neurotransmitera. U jednoj takvoj studiji nađene su niže razine GABA-e u medijalnom prefrontalnom korteksu u osoba oboljelih od shizofrenije, u odnosu na zdrave pojedince. Druga studija uočila je da osobe oboljele od shizofrenije imaju niže vrijednosti GABA-e u odnosu na njihovu zdravu braću i sestre. No i oboljele osobe i njihova neoboljela braća i sestre imali su niže razine glutamata. Takav nalaz podupire hipotezu da genetski rizik za razvoj shizofrenije uključuje glutamatergičnu neurotransmisiju (19).

Interpretacija nalaza MRS može biti izazovna pošto se MRS-om mjeri ukupna tkivnu koncentraciju GABA-e, no ne nužno i koncentraciju GABA-e koja je uključena u neurotransmisiju. Kako bi se riješila i ta dilema, rađena su istraživanja pozitronskom emisijskom tomografijom (PET) koja su mjerila distribuciju radiofarmaka [¹¹C] flumazenila. Taj radiofarmak se specifično veže za GABA_A receptore na benzodiazepinsko vezno mjesto. Stoga se povećana ekstracelularna koncentracija GABA-e na PET-u očituje kao povećan potencijal vezivanja [¹¹C] flumazenila na njegovo vezno mjesto. Posljedično – primjenom blokatora ponovnog unosa GABA-e iz sinapse također PET-om bilježimo veće vezanje [¹¹C] flumazenila za njegovo vezno

mjesto. Studija u kojoj se PET-om mjerila količina vezanog [^{11}C] flumazenila nakon primjene blokatora ponovnog unosa GABA-e iz sinapse u zdravih pojedinaca i pojedinaca oboljelih od shizofrenije pokazala je sljedeće – vezanje [^{11}C] flumazenila za svoje vezno mjesto poraslo je u svim kortikalnim regijama, dok je isti efekt bio prilično manje izražen kod pojedinaca oboljelih od shizofrenije. Razlike su bile najznačajnije u dorzoloateralnom prefrontalnom korteksu, te su bile najizraženije u oboljelih osoba koje nisu dotad primale antipsihotičnu medikaciju (19).

Ovakvi rezultati spadaju među prve in vivo nalaze koji predlažu kako pojedinci oboljeli od shizofrenije imaju ograničeni kapacitet za povećavanje ekstracelularne koncentracije GABA-e (19). Jedan od mogućih uzroka tome je i smanjena sinteza GABA-e.

6.3 Uloge pojedinih podtipova interneurona u patofiziologiji gama oscilacija

Razni nalazi ukazuju na to da PV interneuroni igraju ključnu ulogu u gama oscilacijama. Studije na miševima pokazuju da smanjenje ekscitacije PV interneurona suprimira gama oscilacije dok selektivna aktivacija PV interneurona pojačava gama oscilacije. Ovisno o krajnjoj projekciji PV interneurone dalje dijelimo na PV košaraste interneurone (PVBC) koji se projiciraju na presomatsku regiju piramidnih neurona te na PV svijjećaste stanice (ChC) koje rade sinapsu na inicijalnom segmentu aksona. Aktivnost PVBC interneurona usko je vezana uz aktivnost gama oscilacija, dok je uloga ChC interneurona u generiranju gama oscilacija manje jasna (19).

Razlika PVBC i ChC interneurona se očituje i u enzimima za sintezu GABA-e koje sadrže. Dok ChC interneuroni sadrže samo GAD67 izoformu, PVBC interneuroni sadrže i GAD65 i GAD67 izoforme. Razlika tih interneurona očituje se i u njihovim

receptorima. Iako su oba podtipa vezana uz GABA_A receptore, receptori vezani uz PVBC interneurone primarno sadrže $\alpha 1$ podjedinicu koja je vezana uz brze IPSP, receptori vezani uz ChC interneurone sadrže primarno $\alpha 2$ podjedinicu koja je vezana uz spore IPSP. Budući da gama oscilacije zahtijevaju brze IPSP, razlike između receptora vezanih uz PVBC i ChC interneurona objašnjavaju veću ulogu PVBC interneurona u generiranju gama oscilacija. Stoga, sve dostupne informacije snažno predlažu da neuralna mreža između PVBC interneurona i piramidnih neurona čini neurološku podlogu gama oscilacija(19).

Dodatna istraživanja podupiru hipoteze da i CCK, SST, CR te VIP skupine interneurona imaju ulogu u modulaciji gama oscilacija, odnosno u funkcioniranju radne memorije (19).

6.4 PV interneuroni u prefrontalnom korteksu osoba oboljelih od shizofrenije

Pacijenti oboljeli od shizofrenije u PV interneuronima prefrontalnog korteksa imaju niže razine GAD67 mRNA u odnosu na normalne vrijednosti. Nadalje, iako nije nađena smanjena gustoća presinaptičkih zadebljanja PV interneurona, niti je smanjena količina vGAT transportera na zadebljanjima tih interneurona; razine PV proteina po pojedinoj aksonskoj terminali su bile niže. Ovi podaci zajedno ukazuju na postojanje podtipa PV interneurona koji su patološki promijenjeni u shizofreniji. Suglasno ovim nalazima, razine GAD67 i PV proteina su niže u PVBC podtipu interneurona, dok su razine istih proteina nepromijenjene u ChC podtipu interneurona(19).

Daljnji dokazi za hipotezu da je patologija PVBC interneurona vezana uz shizofreniju dolazi od studija o postsinaptičkim receptorima. Niže razine $\alpha 1$ podjedinice GABA_A receptora nađene su u piramidnim stanicama prefrontalnog korteksa. Nadalje, nađene

su niže vrijednosti i drugih receptorskih podjedinica, od kojih je najznačajnije smanjenje razine i $\beta 2$ podjedinice. Zanimljivo je da su niže razine tih receptorskih podjedinica nađene u slojevima 3 i 4 prefrontalnog korteksa, upravo u onim slojevima gdje su deficiti GAD67 mRNA najizraženiji. Ovi nalazi ukazuju da postoje promjene i na presinaptičkom i na postsinaptičkom dijelu veze PVBC interneurona i piramidnih neurona. To dovodi do smanjene inhibicije piramidnih neurona (19).

6.5 Dopaminska teorija i interneuroni

Mnoga vlakna monoaminskih subkortikalnih neurona se projiciraju na kortikalne interneurone, između ostalog i dopaminska vlakna. Ta vlakna bi mogla direktno utjecati na aktivnost GABA interneurona. Tu tezu podupiru nalazi presinaptičkih proširenja imunoreaktivnih na enzim tirozin hidrosilazu (TH-IR), koji ima ključnu ulogu u sintezi dopamina, na kortikalne neurone štakora koji su imunoreaktivni na GAD (GABA-ergički interneuroni). Neurorazvojni model naglašava bitnu ulogu prenatalnog i postnatalnog stresa kao inicijatora patoloških promjena u mozgu. Taj stres bi mogao patološki djelovati upravo preko dopaminskog sustava. Naime, kao reakcija na stres javlja se povećana egzocitoza dopamina u prefrontalnom korteksu. U obzir treba uzeti i činjenicu da se povećan broj presinaptičkih dopaminskih proširenja koja tvore sinapse s interneuronima može u štakora inducirati apliciranjem stresnih doza kortikosterona i prenatalno i postnatalno. To ukazuje da je normalan razvoj GABA interneurona ovisan i o zdravim dopaminskim projekcijama, no razvoj postaje abnormalan kada je osoba izložena prenatalno i postnatalnom stresu kao komorbiditetnim faktorima (20).

6.6 Perinatalni stres i disinhibicija

Neke studije navode kako bi medijatori perinatalne reakcije na stres mogle biti mikroglijalne stanice. Njihova hiperreaktivnost bi vodila do gubitka kortikalne sive tvari te smanjenog broja sinapsi, između ostalog interneurona i njihovih sinapsi. To bi direktno vodilo do patoanatomskih promjena u mozgu koje bi vodile do negativnih te kognitivnih simptoma shizofrenije. No ujedno bi gubitak kortikalne kontrole čiji su medijatori interneuroni mogao voditi do disinhibicije subkortikalnog dopaminskog sistema, tako vodeći do pozitivnih simptoma bolesti (25). Ujedno, disinhibicija dopaminskog sistema vodi do njegove hiperreaktivnosti, koji bi svojom abnormalnom aktivnošću mogao voditi do daljnje disfunkcije GABA interneurona, zatvarajući time začarani krug disregulacije GABA te dopaminskog sustava (25).

7. ZAKLJUČAK

Iako pozitivni i negativni simptomi spadaju među najupečatljivije značajke bolesti, upravo kognitivni poremećaji čine srž bolesti te bi čak mogli prethoditi nastanku pozitivnih i negativnih simptoma (26).

Svi ovdje navedeni nalazi i rezultati studija ukazuju da je signalizacija interneurona u prefrontalnom korteksu od ključne važnosti za generiranje gama oscilacija te normalno funkcioniranje radne memorije. Posljedično, poremećaji kortikalnih interneurona će dovesti do iregularnosti gama oscilacija te poremećaja radne memorije kakve nalazimo u shizofreniji. Pošto su PVBC interneuroni ključni u generiranju gama oscilacija, upravo bi patologija ovih interneurona dovela do simptoma shizofrenije (19). Upravo tu tezu potvrđuju nalazi raznih studija od kojih su neke ovdje navedene. Naravno, ne treba zanemariti ulogu i drugih podtipova kortikalnih interneurona koji u određenoj mjeri također dovode do poremećaja generacije gama oscilacija, bilo direktno djelujući na piramidne neurone, bilo indirektno djelujući na PVBC interneurone.

Da zaključimo – zbog velike povezanosti i umreženosti raznih neurotransmitterskih sustava u mozgu, moguće je da poremećaj bilo kojeg od navedenih sustava dovodi do promjena i ostalih sustava u neuronskoj mreži, posljedično vodeći do poremećaja kakve nalazimo u shizofreniji. Ostaje i dalje nejasno je li neuropatološka osnova shizofrenije poremećaj povezanosti ekscitatornih piramidnih neurona, inhibitornih kortikalnih interneurona, subkortikalnih dopaminskih neurona ili kolinergičnog sustava. Unatoč toj još otvorenoj dilemi, disfunkcija kortikalnih interneurona je konstantan nalaz u shizofreniji, a ta činjenica čini taj neuronski sustav obećavajućim za primjenu ciljane terapije (26).

8. ZAHVALE

Prije svega, zahvalio bih se svojoj mentorici doc.dr.sc. Ani Hladnik na iznimnoj pomoći i potpori tijekom pripreme i pisanja ovog diplomskog rada. Zahvaljujem se i kolegici Andrei Blažević zbog jako vrijedne pomoći tokom završne dorade ovog rada. Također se zahvaljujem i svim nastavnicima na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na njihovoj poduci kojom su mi pomogli da steknem znanja i vještine koje će mi pomoći u daljnjoj karijeri. Zahvaljujem se i svim dragim kolegama studentima koji su mi bili velika radost i podrška kroz sve godine studiranja. Na kraju, posebno bih zahvalio svojoj obitelji i prijateljima, bez čije ljubavi, pomoći i podrške ne bih uspio doći do pisanja ovog teksta.

9. LITERATURA

1. Häfner H, an der Heiden W. Epidemiology of schizophrenia. *Can J Psychiatry*. 1997;42(2):139-151.
2. Begić D. Psihopatologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2016.
3. Tandon R, Gaebel W, Barch DM, Bustillo J, Gur RE, Heckers S, et al. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. *Schizophr Res*. 2013;150(1):3–10.
4. Begić D, Jukić V, Medved v. (ur.) Psihijatrija. Zagreb: Medicinska naklada, 2015.
5. WHO. Međunarodna klasifikacija bolesti i srodnih zdravstvenih problema. MKB-10. Medicinska naklada, 2012.
6. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Mack S, Dodd J, Butler J i sur., ur. *Principle of Neural Science - 4th edition*. 1991.
7. Prkačin MV. Neurodevelopmental model of schizophrenia. *Gyrus*. 2020;7. manuscript accepted and awaiting publishing
8. Birnbaum R, Weinberger DR. Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(12):727–40.
9. Hotujac Lj. Psihijatrija. Zagreb: Medicinska naklada, 2006.
10. Kaplan I, Benjamin J. Priručnik kliničke psihijatrije. Zagreb: Naklada Slap, 1997.
11. Frančišković T, Moro L. Psihijatrija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009.

12. Džaja D. Morfološka i kemijska obilježja kalretininskih neurona u neokorteksu primata [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski Fakultet; 2015.
13. Hladnik A. Tangencijalna migracija stanica telencefalona č ovjeka i majmuna u ranom fetalnom razdoblju [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet; 2016.
14. Judaš M, Kostović I. Temelji neuroznanosti. Zagreb: MD, 1997.
15. Somogyi P, Klausberger T. Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol.* 2005;562(1):9–26.
16. Skaggs WE, McNaughton BL, Permenter M, Archibeque M, Vogt J, Amaral DG, et al. EEG sharp waves and sparse ensemble unit activity in the macaque hippocampus. *J Neurophysiol.* 2007;98(2):898–910.
17. Hladnik A, Džaja D, Darmopil S, Jovanov-Milošević N, Petanjek Z. Spatio-temporal extension in site of origin for cortical calretinin neurons in primates. *Front Neuroanat.* 2014;8(JUN):1–11.
18. Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(10):793–807.
19. Dienel SJ, Lewis DA. Alterations in cortical interneurons and cognitive function in schizophrenia. *Neurobiol Dis.* 2019;131:104208.
20. Benes, F., Berretta, S. GABAergic Interneurons: Implications for Understanding Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Neuropsychopharmacol* 25, 1–27 (2001).
21. de Jonge JC, Vinkers CH, Hulshoff Pol HE, Marsman A. GABAergic mechanisms in schizophrenia: Linking postmortem and In vivo studies. *Front*

- Psychiatry. 2017;8(AUG):118.
22. Sedmak D. Calretinin neurons in the primate prefrontal cortex [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2019.
 23. Wikipedia: the free encyclopedia [Internet]. St. Petersburg (FL): Wikimedia Foundation, Inc. 2001 – Neural circuit; [ažurirano 08.05.2020; pristupljeno 08.05.2020.]. Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Neural_circuit
 24. Gonzalez-Burgos G, Lewis DA. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: Implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. Schizophr Bull. 2008;34(5):944–61.
 25. Howes OD, McCutcheon R. Inflammation and the neural diathesis-stress hypothesis of schizophrenia: a reconceptualization. Transl Psychiatry. 2017;7(2):e1024.
 26. Inan M, Petros TJ, Anderson SA. Losing your inhibition: Linking cortical GABAergic interneurons to schizophrenia. Neurobiol Dis. 2013;53:36–48.

10. ŽIVOTOPIS

Matija Vid Prkačin rođen je 30. siječnja 1996.g. u Zagrebu. Nakon završene osnovne škole pohađao je X.gimnaziju „Ivan Supek“ gdje i maturira 2014. godine. Iste godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Od druge godine studija demonstrira na Katedri za anatomiju za studij medicine, a od zadnje godine i za studij dentalne medicine. Također demonstrira i na katedri predmeta Temelji neuroznanosti od treće godine studija. Ujedno je u toku treće godine studija odradio godinu dana kao demonstrator na Katedri za fiziologiju. Član je Studentske sekcije za neuroznanost od 2. godine studija te sudjeluje u aktivnostima sekcije u vidu radionica u sklopu „Tjedna mozga“ te neuroanatomskih vježbi. Član je Studentske sekcije za infektologiju od 5. godine studija. Član je Studentske sekcije za radiologiju na 6.godini studija. 2020. godine kao izlagač sudjeluje na kongresu „Diskursi shizofrenije“.

Među ostale interese mu spada bavljenje sportom – trenira plivanje od 10. godine života te se rekreativno bavi nogometom. Tečno se služi engleskim jezikom te barata i znanjem njemačkog jezika.