

Tomasz Gos, Zbigniew Jankowski

Samobójstwo a depresja w świetle pośmiertnej oceny zaburzeń aktywności neuronalnej

Suicide and depression in the postmortem evaluation of disturbed neuronal activity

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: dr hab. med. Z. Jankowski

W pracy omówiono wyniki własnych badań neurohistologicznych metodą AgNOR dotyczących oceny zaburzeń aktywności struktur mózgu ważnych w patofizjologii depresji. Wyniki te wskazywały pośrednio na przewlekłe zaburzenia aktywności transkrypcyjnej rybosomalnego DNA w neuronach limbicznej kory przedczołowej, ciała migdałowatego, gałki bladej bocznej i serotonergicznego jądra grzbietowego szwu. Wpływ procesów prowadzących do samobójstwa został wyraźnie zaakcentowany w przeciwieństwie do słabo zaznaczonej różnicy pomiędzy depresją jedno- i dwubiegunową. Uzyskane wyniki potwierdzają pogląd, że procesy te i depresja to zjawiska patologiczne o częściowo odrębnej neurobiologii. Wyniki te mogą mieć znaczenie także dla medycyny sądowej.

The authors have reviewed the results of their postmortem neurohistological investigations related to the evaluation of impaired activity of brain structures relevant to pathophysiology of depression. Chronic changes in ribosomal DNA transcriptional activity have been indirectly suggested by the AgNOR staining method in neurons of the prefrontal limbic regions, the amygdala, the external globus pallidus, and the serotonergic dorsal raphe nucleus. The impact of processes leading to suicide has been clearly accentuated in contrast to the weak influence of unipolar-bipolar dichotomy. The present results support the view that suicide and depression constitute pathological phenomena with partially different neurobiology. They may be also relevant to forensic pathology.

Słowa kluczowe:

depresja, samobójstwo, biegunowość, barwienie metodą AgNOR

Key words:

depression, suicide, polarity, AgNOR staining method

WPROWADZENIE

Transkrypcja rybosomalnego DNA (rDNA) odpowiedzialna za produkcję około połowy całkowitego RNA w komórce jest miarodajnym wskaźnikiem integralności genomu, bardzo wrażliwym na czynniki uszkadzające go. Aktywność transkrypcyjna rDNA podczas interfazy może być oceniana pośrednio przy pomocy mikroskopu świetlnego dzięki pomiarom kariometrycznych parametrów AgNOR (skrót angielskiej nazwy regionu organizującego jąderko – *argyrophilic nucleolar organising region*). Są to: powierzchnia AgNOR, liczba AgNOR i wskaźnik AgNOR definiowany jako iloraz powierzchni AgNOR i powierzchni przekroju jądra komórkowego (określany także jako względna powierzchnia AgNOR). Ocena dotyczy preparatów barwionych metodą AgNOR, będącą formą uproszczonego wysrebrzenia [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Ścisły związek pomiędzy zmianami morfologicznymi w jądrze komórkowym i aktywnością neuronalną został potwierdzony najnowszymi metodami badawczymi [8, 9], podobnie jak kluczowa rola transkrypcji rDNA w plastyczności neuronalnej [10] mającej znaczenie fundamentalne dla funkcji mózgu. Nie budzi więc zdziwienia fakt, że niedawne badania molekularne wykazały spadek aktywności transkrypcyjnej rDNA w zaburzeniach psychicznych [11, 12]. Szczególnie ważne jest stwierdzenie związanego z mechanizmami epigenetycznymi spadku

tej aktywności w hipokampie u cierpiących na depresję samobójców, którzy przeżyli w dzieciństwie ciężki uraz psychiczny [12].

Względnie prosta metoda barwienia AgNOR posiada ustalone miejsce w neuropatologii, przede wszystkim w ilościowej ocenie aktywności proliferacyjnej guzów nowotworowych. Metodę tę zastosowano w badaniach własnych nad depresją w celu pośredniej oceny zmian aktywności transkrypcyjnej rDNA neuronów projekcyjnych wybranych struktur mózgu [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7] (podsumowanie wyników w tab. I). Tak więc badania metodą AgNOR stanowią uzupełnienie badań sygnału spoczynkowego (ang. *resting-state signal*) metodami neuroobrazowania czynnościowego, odzwierciedlającymi przede wszystkim aktywność aferentnego unerwienia glutaminianergicznego i miejscowe przetwarzanie związanego z nią sygnału, a nie aktywność neuronów projekcyjnych w badanym obszarze [13].

Różnorodne objawy depresji (w tym zachowania samobójcze) są najprawdopodobniej związane z zaburzeniami sieci utworzonej przez wiele struktur mózgu, obejmujących przede wszystkim obszary kory przedczołowej (ang. *prefrontal cortex*, PFC), zespół hipokampa, układ prążkowiowo-gałkowy, ciało migdałowe, podwzgórze, wzgórze i monoaminoergiczne układy aktywujące pnia mózgu (przegląd w [7]). W związku z tym badania własne metodą AgNOR obejmowały obszary limbiczne PFC, ciało migdałowe, gałkę bładą boczną i serotonergiczne jądro grzbietowe szwu jako ważne komponenty tej sieci neuronalnej (ryc. 1). Badania zostały przeprowadzone na pochodzących z Magdeburgskiego Banku Mózgów (ang. *Magdeburg Brain Bank*) mózgach samobójców i niesamobójców z dobrze udokumentowanym epizodem depresyjnym w przebiegu tzw. dużej depresji (ang. *major depressive disorder*, MDD) lub choroby dwubiegunowej (ang. *bipolar disorder*, BD) w myśl kryteriów DSM IV, a więc określając skrótowo – cierpiących na depresję jedno- lub dwubiegunową oraz na mózgach osobników kontrolnych bez zaburzeń psychicznych. Celem badań była przede wszystkim ocena wpływu procesów prowadzących do samobójstwa; ocena wpływu dychotomii MDD-BD (biegunowości) była aspektem drugorzędym z punktu widzenia medycyny sądowej.

Tabela I. Sumaryczne ujęcie wyników oceny aktywności transkrypcyjnej rybosomalnego DNA (rDNA) metodą AgNOR w badanych strukturach mózgu.

Table I. Summarized results of the evaluation of ribosomal DNA (rDNA) transcriptional activity by the AgNOR method in the analysed brain structures.

Struktura mózgu Brain structure	Aktywność Activity				
	D	S	NS	MDD	BD
ACd r	→	→	→	↓*	→
ACd l	→	→	→	→	→
ACv r	↓	→	→	→	→
ACv l	→	↓	→	→	→
OFC r	→	→	↑	→	→
OFC l	→	→	→	→	→
AM r	↑	↑	→	→	→
AM l	→	→	→	→	→
EGP r	→	→	→	→	→
EGP l	↓	→	→	→	→
DRN	→	↓	→	→	→

AC – przednia część zakrętu obręczy / Anterior cingulate

ACd – część grzbietowa / Dorsal part

ACv – część brzuszna / Ventral part

OFC – kora oczodołowo-czołowa / Orbitofrontal cortex

AM – ciało migdałowe / Amygdala

EGP – gałka błada boczna / External globus pallidus

DRN – jądro grzbietowe szwu / Dorsal raphe nucleus

r – prawa / right

l – lewa / left

D – wszyscy chorzy na depresję / All depressed patients

S – samobójcy / Suicides

NS – niesamobójcy / Non-Suicides

MDD – jednobiegunowa / unipolar

BD – dwubiegunowa grupa diagnostyczna / bipolar subgroup of depressed patients

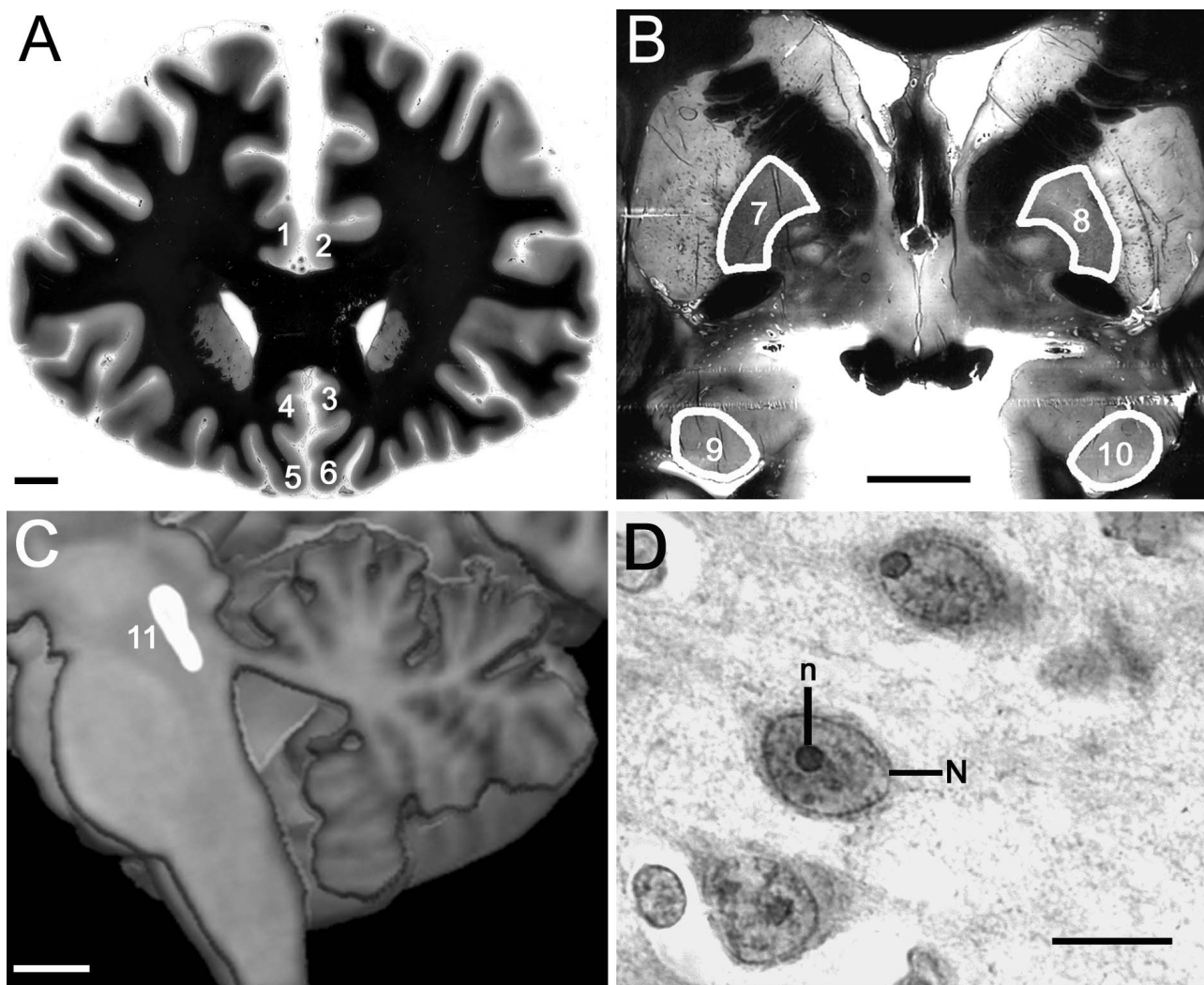
w porównaniu z grupą kontrolną: / compared with controls:

→ – niezmienniona / unchanged

↑ – podwyższona / increased

↓ – obniżona aktywność transkrypcyjna rDNA / decreased rDNA transcriptional activity

* – wyniki nieopublikowane / unpublished results



Ryc. 1. A, B, C – Badane struktury: 1 – prawa i 2 – lewa kora przedniej części zakrętu obręczy, część grzbietowa; 3 – lewa i 4 – prawa kora przedniej części zakrętu obręczy, część brzuszna; 5 – prawa i 6 – lewa kora oczodołowo-czołowa; 7 – prawa i 8 – lewa gałka biała; 9 – prawa i 10 – lewe jądro boczne ciała migdałowatego; 11 – jądro grzbietowe szwu (paski kalibracyjne 10 mm). D – Przykładowe barwienie metodą AgNOR neuronów piramidowych kory oczodołowo-czołowej, uwidaczniające wyraźnie granice jądra (N) i reprezentującego jąderko obszaru AgNOR (n) (pasek kalibracyjny 10 μ m). Różnice parametrów AgNOR były nieuchwytnie w ocenie jakościowej i mogły zostać stwierdzone jedynie przy pomocy pomiarów.

Fig. 1. A, B, C – The regions of interest: 1 – the right, and 2 – the left anterior cingulate cortex, dorsal part; 3 – the left, and 4 – the right anterior cingulate cortex, ventral part; 5 – the right, and 6 – the left orbitofrontal cortex; 7 – the right, and 8 – the left external globus pallidus; 9 – the right, and 10 – the left lateral amygdaloid nucleus; 11 – the dorsal raphe nucleus (scale bars 10 mm). D – After AgNOR staining, the borders of the nucleus (N) and the AgNOR area (representing the nucleolus) (n) are clearly visible within orbitofrontal pyramidal neurons as an example of this staining method (scale bar 10 μ m). The differences in AgNOR parameters were beyond qualitative evaluation and they could only be captured by means of quantitative measurements.

Obszary limbiczne PFC

Obszary limbiczne PFC pełnią najprawdopodobniej decydującą rolę w powstawaniu objawów depresji właściwych tylko człowiekowi (tendencji samobójczych, poczucia beznadziejności, winy, bycia bezwartościowym itp.) [2, 4]. Ten obszar limbicznej PFC, który jest określany mianem kory przedniej części zakrętu obręczy (ang. *anterior cingulate cortex*, AC) może być podzielony pod względem czynnościowym na część „afektywną”, zlokalizowaną brzusznie (ACv) i do przodu od kolana spoidła wielkiego oraz na „kognitywną” część grzbietową (ACd) [2]. Inny limbiczny obszar PFC noszący nazwę kory oczodołowo-czołowej (ang. *orbitofrontal cortex*, OFC) jest zaangażowany w ocenę znaczenia emocjonalnego różnych bodźców sensorycznych jak również konsekwencji związanych z działaniami pod ich wpływem [4]. Liczne i różnorodne badania neuropatologiczne i obrazowe udowodniły znaczenie zaburzeń tych obszarów korowych w patofizjologii depresji [2, 4].

Zarówno w AC jak i OFC zostały stwierdzone odchylenia parametrów AgNOR w najważniejszych neuronach projekcyjnych (tj. w komórkach piramidowych warstwy V kory) związane przede wszystkim z procesami prowadzącymi do samobójstwa i w znacznie mniejszym stopniu z biegunowością [2, 4, 7]. Ponadto OFC była jedyną z badanych struktur mózgu, w której zaznaczył się wyraźnie pozytywny, przeciwdziałający samobójstwu efekt leków psychotropowych (neuroleptyków) [4]. W uzupełnieniu badań metodą AgNOR, ostatnie badania własne markerów układu GABAergicznego [14, 15, 16] i aktywacji mikrogleju [17] w obszarach PFC potwierdziły pogląd o dominującym wpływie procesów prowadzących do samobójstwa na ilościowe zmiany neurohistologiczne stwierdzane w depresji.

Ciało migdałowe

Ciało migdałowe posiada silne wzajemne połączenia z omówionymi obszarami limbicznymi PFC. Odgrywa ono zasadniczą rolę w powstawaniu emocji a jego jądro boczne (ang. *lateral amygdaloid nucleus*, La) jest strukturą, w której zachodzą zmiany plastyczne w neuronach projekcyjnych mające kluczowe znaczenie dla powstawania pamięci z komponentą emocjonalną. Zaburzenia ciała migdałowego w depresji zostały potwierdzone licznymi bada-

niami neuroobrazowymi i w porównaniu z nimi ilość badań neuropatologicznych jest skąpa. Wykazano kluczową rolę tej struktury, także w powstawaniu agresji zarówno skierowanej na otoczenie jak i ksobernej, na co wskazują m.in. badania molekularne zaburzeń ekspresji genów w ciele migdałowatym samobójców [6].

W sposób odpowiadający doniesieniom opartym na innej metodyce, wyniki badań własnych metodą AgNOR wskazywały, że u chorych na depresję występował wzrost aktywności transkrypcyjnej rDNA w neuronach projekcyjnych prawego La. Analiza statystyczna *post hoc* wykazała jednak, że efekt ten był spowodowany wzrostem aktywności jedynie w grupie samobójców bez żadnego wpływu biegunowości. Co więcej, stwierdzono właściwą dla grupy samobójców oraz dla grupy pacjentów jednobiegunowych silną, dodatnią korelację pomiędzy wielkością jądra komórkowego neuronów projekcyjnych La i komórek piramidowych badanych obszarów PFC po stronie prawej [6]. Tak więc wyniki badań własnych korespondowały z wynikami czynnościowego neuroobrazowania depresji, także w zakresie potwierdzenia zaburzeń w oddziaływaniu pomiędzy korą przedczołową a ciałem migdałowatym.

Gałka biała boczna

Układ prążkowiowo-gałkowy stanowiący największą część jąder podstawy wchodzi w skład złożonych obwodów podkorowo-korowych (limbiczno-korowo-prążkowiowo-gałkowo-wzgórzowych) stanowiących sieci neuronalne zaangażowane w modulację nastroju, funkcji poznawczych i zachowania. Anatomiczno-czynnościowe właściwości tego układu powodują, że wszystkie jego części (limbiczna, asocjacyjna i zuciowo-ruchowa) uczestniczą w przetworzeniu motywacji na działanie. Gałka biała boczna (ang. *external globus pallidus*, EGP) ma odgrywać najistotniejszą rolę integrującą i przewodzącą w układzie prążkowiowo-gałkowym naczelnym, w tym człowieka. Jednakże ilość doniesień na temat odchyień w gałce białej w zaburzeniach afektywnych jest skąpa w porównaniu z publikacjami dotyczącymi innych struktur mózgu, a ponadto eksponują one znaczenie przede wszystkim części limbicznej układu prążkowiowo-gałkowego [5].

Badania własne metodą AgNOR wskazywały na spadek aktywności transkrypcyjnej rDNA w dużych

neuronach projekcyjnych części czuciowo-ruchowej lewej EGP u wszystkich chorych w porównaniu z osobnikami kontrolnymi. Znamienne, że efekt ten nie dotyczył w sposób wybiórczy żadnej z analizowanych grup, tj. był niezależny od procesów prowadzących do samobójstwa czy biegunowości [5]. Aktywacja EGP prowadzi najprawdopodobniej pośrednio do wzrostu aktywności obszarów kory nowej poprzez odhamowanie pobudzających połączeń wzgórzowo-korowych. Oznacza to, że spadek aktywności EGP występujący prawdopodobnie w depresji i chorobie Parkinsona może powodować zjawisko odwrotne. Obniżona aktywność obszarów kory nowej stwierdzana w obu stanach chorobowych wydaje się potwierdzać tę hipotezę [5].

Jądro grzbietowe szwu

Zaburzenia ośrodkowego układu serotonergicznego implikują etiologię depresji, agresji, impulsywności i procesów prowadzących do samobójstwa. Mogą one być niezależnym od zasadniczego zaburzenia psychicznego czynnikiem zachowania samobójczego, na które składają się jako tzw. endofenotypy m.in. autoagresywność i impulsywność. Dysfunkcja może być ograniczona do niewielkiej struktury mózgu, jaką jest należące do kompleksu serotonergicznego jądro szwu, znajdujące się w śródmózgowiu i moście jądro grzbietowe szwu (ang. *dorsal raphe nucleus*, DRN), mające wpływ na złożone sieci neuronalne. Znaczenie jego zaburzeń w procesach prowadzących do samobójstwa wykazały liczne badania pośmiertne [1, 3].

W badaniach własnych metodą AgNOR stwierdzono cechy obniżonej aktywności transkrypcyjnej rDNA w neuronach DRN jedynie u samobójców niezależnie od grupy diagnostycznej. Wskazując na obniżoną aktywność serotonergiczną, były to wyniki zgodne z wcześniejszymi doniesieniami. W sposób przekonujący został wykazany wpływ pozio-

mu autoagresywności w akcie samobójczym [3], potwierdzony przez dalsze badania własne dotyczące oceny immunoreaktywności hydroksylazy tyrozynowej w neuronach miejsca sinawego jako kluczowej struktury noradrenergicznego układu aktywującego [18]. Były to pierwsze doniesienia, w których przedstawiono możliwość oceny poziomu autoagresywności w oparciu o pośmiertne badania morfologiczne struktur mózgu. Samobójstwo o nasilonym poziomie autoagresywności (ang. *violent suicide*) prowadzi do uszkodzeń, których interpretacja może nastroczać trudności z sądowo-lekarskiego punktu widzenia. Oznacza to potencjalne znaczenie ilościowych badań neurohistologicznych mózgu dla różnicowania pomiędzy samobójstwem, zabójstwem i zgonem wypadkowym, co stanowi w medycynie sądowej problem podstawowy, lecz nie do końca rozwiązany.

WNIOSKI

Metoda AgNOR okazała się skuteczna w odniesieniu do pośmiertnych badań zaburzeń afektywnych. Ich wyniki potwierdzają pogląd, że depresja i procesy prowadzące do samobójstwa to stany chorobowe mózgu o częściowo odrębnej neurobiologii. Wskazują one również, że depresja jedno- i dwubiegunowa posiadają odmienne podłoże neurobiologiczne. Wpływ biegunowości był jednak znacznie słabszy niż procesów prowadzących do samobójstwa. Okazało się, że leki psychotropowe (w tym przeciwdepresyjne i typowe neuroleptyki) przeciwdziałają zmianom właściwym dla tych procesów w sposób bardzo ograniczony. Ilościowe badania neurohistologiczne struktur mózgu w zaburzeniach psychicznych mają znaczenie interdyscyplinarne, także dla medycyny sądowej z uwagi na potencjalne znaczenie w diagnostyce samobójstwa.

PIŚMIENNICTWO

1. Gos T., Krell D., Brisch R., Bielau H., Trübner K., Bernstein H. G., Bogerts B.: The changes in AgNOR parameters of dorsal raphe nucleus neurons are related to suicide. *Leg. Med. (Tokyo)* 2007, 9 (5): 251-257.
2. Gos T., Krell D., Brisch R., Bielau H., Trübner K., Bernstein H. G., Bogerts B.: The changes of AgNOR parameters of anterior cingulate pyramidal neurons are region-specific in suicidal and non-suicidal depressive patients. *World J. Biol. Psychiatry*. 2007, 8 (4): 245-255.
3. Gos T., Krell D., Brisch R., Bielau H., Trübner K., Steiner J., Bernstein H. G., Bogerts B.: Demonstration of decreased activity of dorsal raphe nucleus neurons in depressed suicidal patients by the AgNOR staining method. *J. Affect. Disord.* 2008, 111 (2-3): 251-260.
4. Gos T., Krell D., Bielau H., Steiner J., Mawrin C., Trübner K., Bernstein H. G., Jankowski Z., Bogerts B.: Demonstration of disturbed activity of orbitofrontal pyramidal neurons in depressed patients by the AgNOR staining method. *J. Affect. Disord.* 2009, 118 (1-3): 131-138.
5. Gos T., Krell D., Bielau H., Steiner J., Trübner K., Brisch R., Bernstein H. G., Jankowski Z., Bogerts B.: Demonstration of disturbed activity of external globus pallidus projecting neurons in depressed patients by the AgNOR staining method. *J. Affect. Disord.* 2009, 119 (1-3): 149-155.
6. Gos T., Krell D., Bielau H., Steiner J., Mawrin C., Trübner K., Brisch R., Bernstein H. G., Jankowski Z., Bogerts B.: Demonstration of disturbed activity of the lateral amygdaloid nucleus projection neurons in depressed patients by the AgNOR staining method. *J. Affect. Disord.* 2010, 126 (3): 402-410.
7. Gos T., Bogerts B., Steiner J.: Neuronal activity patterns in depression assessed post mortem – which impacts have suicidality and unipolar-bipolar dichotomy? *Nervenheilkunde*. 2011, 30 (11): 909-913.
8. Jordan B. A., Fernholz B. D., Khatri L., Ziff E. B.: Activity-dependent AIDA-1 nuclear signaling regulates nucleolar numbers and protein synthesis in neurons. *Nat. Neurosci.* 2007, 10 (4): 427-435.
9. Wittmann M., Queisser G., Eder A., Wiegert J. S., Bengtson C. P., Hellwig A., Badring H.: Synaptic activity induces dramatic changes in the geometry of the cell nucleus: interplay between nuclear structure, histone H3 phosphorylation, and nuclear calcium signaling. *J. Neurosci.* 2009, 29 (47): 14 687-14 700.
10. Gomes C., Smith S., Youssef M., Zheng J., Hagg T., Hetman M.: RNA Polymerase 1-driven transcription as a mediator of BDNF-induced neurite outgrowth. *J. Biol. Chem.* 2011, 286 (6): 4357-4363.
11. Ding Q., Markesbery W. R., Chen Q., Li F., Keller J. N.: Ribosome dysfunction is an early event in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2005, 25 (40): 9171-9175.
12. McGowan P. O., Szyf M.: The epigenetics of social adversity in early life: implications for mental health outcomes. *Neurobiol. Dis.* 2010, 39 (1): 66-72.
13. Logothetis N. K.: What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature* 2008, 453 (7197): 869-878.
14. Bielau H., Steiner J., Mawrin C., Trübner K., Brisch R., Meyer-Lotz G., Brodhun M., Dobrowolny H., Baumann B., Gos T., Bernstein H. G., Bogerts B.: Dysregulation of GABAergic neurotransmission in mood disorders: a postmortem study. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007, 1096: 157-169.
15. Gos T., Günther K., Bielau H., Dobrowolny H., Mawrin C., Trübner K., Brisch R., Steiner J., Bernstein H. G., Jankowski Z., Bogerts B.: Suicide and depression in the quantitative analysis of glutamic acid decarboxylase-immunoreactive neuropil. *J. Affect. Disord.* 2009, 113 (1-2): 45-55.
16. Gos T., Steiner J., Bielau H., Dobrowolny H., Günther K., Mawrin C., Krzyżanowski M., Hauser R., Brisch R., Bernstein H. G., Jankowski Z., Braun K., Bogerts B.: Differences between unipolar and bipolar I depression in the quantitative analysis of glutamic acid decarboxylase-immunoreactive neuropil. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2012, DOI 10.1007/s00406-012-0315-x.
17. Steiner J., Walter M., Gos T., Guillemin G., Bernstein H., Sarnyai Z., Mawrin C., Brisch R., Bielau H., Schwabedissen L., Bogerts B., Myint A.: Severe depression is associated with increased microglial quinolinic acid in subregions of the anterior cingulate gyrus: evidence for an immunomodulated glutamatergic neurotransmission? *J. Neuroinflammation* 2011, 8: 94.

18. Gos T., Krell D., Bielau H., Brisch R., Trübner K., Steiner J., Bernstein H. G., Jankowski Z., Bogerts B.: Tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the locus coeruleus is elevated in violent suicidal depressive patients. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2008, 258 (8): 513-520.

Adres do korespondencji:

Tomasz Gos

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. Dębowa 23

80-204 Gdańsk

e-mail: gost@gumed.edu.pl