

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Ο ρόλος του αναλόγου του νευροστεροειδούς
δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) BNN27 στη σχιζοφρένεια»**

ΖΟΥΠΑ ΕΛΛΗ

Επιβλέπων Καθηγητής:
ΠΙΤΣΙΚΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Καθηγητής Φαρμακολογίας,
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΛΑΡΙΣΑ
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2018

UNIVERSITY OF CRETE
SCHOOL OF MEDICINE
GRADUATE PROGRAM IN «NEUROSCIENCE»

MASTER THESIS

**« The role of the dehydroepiandrosterone (DHEA) derivative BNN27
in schizophrenia»**

ZOUPA ELLI

Supervisor Professor:
PITSIKAS NIKOLAOS
Professor of Pharmacology,
School of Medicine, Faculty of Health Sciences, University of Thessaly

LARISSA
OCTOBER 2018

ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

1. Νικόλαος Πιτσίκας, καθηγητής Φαρμακολογίας, ΤΙ, ΣΕΥ, ΠΘ (επιβλέπων καθηγητής)
2. Αχιλλέας Γραβάνης, καθηγητής Φαρμακολογίας, ΤΙ, ΠΚ
3. Γεώργιος Παναγής, καθηγητής Βιοψυχολογίας, ΤΨ, ΠΚ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Νικόλαο Πιτσικά, για την εμπιστοσύνη και την κατανόηση που επιδείκνυε σε τυχόν προβλήματα που αντιμετώπισα κατά την παραμονή μου στο εργαστήριο, καθώς και για την ενθάρρυνση που μου παρείχε. Οι συμβουλές και οι γνώσεις που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας θα με συνοδεύουν στη μετέπειτα σταδιοδρομία μου. Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να απευθύνω στην κα. Κυριακή Θερμού που ήταν η επιβλέπουσα καθηγήτρια των μεταπτυχιακών μου σπουδών στο Ηράκλειο για όλη τη βοήθεια που μου έχει προσφέρει, καθώς και στον τεχνικό του εργαστηρίου Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής στη Λάρισα κ. Ηλία Μπέγα.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το Κοινοφελές Ίδρυμα «Α. Σ. Ωνάσης» που με την χορήγηση της μεταπτυχιακής μου υποτροφίας με βοήθησε να εκπληρώσω το όνειρό μου και να ολοκληρώσω τις σπουδές μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα των «Νευροεπιστημών» στο Ηράκλειο Κρήτης.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για όλη την ηθική και υλική υποστήριξη που μου παρείχε. Κλείνοντας, θα ήθελα να αφιερώσω αυτήν την προσπάθεια στον κ. Θεοφάνη Γκαμπλιά για τη συμπαράστασή του και πάνω από όλους στη μητέρα μου για την πίστη που μου έχει δείξει όλα αυτά τα χρόνια αλλά και για το πρότυπο που αποτελεί για εμένα.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT.....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1. Σχιζοφρένεια.....	8
1.1.1. Ιστορική αναδρομή-Σημεία και συμπτώματα.....	8
1.1.2. Αιτιοπαθολογία σχιζοφρένειας.....	13
1.1.2.1. Επιδημιολογικές μελέτες.....	13
1.1.2.2. Νευροαναπτυξιακή υπόθεση.....	15
1.1.2.3. Νευροεκφυλιστική θεωρία.....	16
1.1.2.4. Γενετικοί παράγοντες.....	17
1.1.2.5. Δομικές αλλαγές.....	18
1.1.2.6. Οξειδωτικό στρες και σχιζοφρένεια.....	20
1.1.2.7. Νευροχημικές υποθέσεις/Νευροδιαβιβαστικά συστήματα.....	21
I. Ντοπαμίνη και σχιζοφρένεια.....	22
II. Γλουταμικό οξύ και σχιζοφρένεια.....	23
III. GABA και σχιζοφρένεια.....	25
1.1.3. Θεραπεία σχιζοφρένειας.....	27
1.2. Νευροστεροειδή.....	30
1.2.1. Ορισμός-Κατηγορίες.....	30
1.2.2. DHEA και ρόλος της.....	31
1.2.3. Μικρονευροτροφίνες, ανάλογα των νευροστεροειδών.....	34
1.3. BNN27.....	35
1.4. Σχιζοφρένεια και DHEA.....	38
1.5. Στόχοι μελέτης.....	40
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	41
2.1. Πειραματόζωα.....	41
2.2. Φάρμακα.....	42
2.3. Πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας.....	42

2.4. Πειραματικές δοκιμασίες.....	44
2.4.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου.....	44
2.4.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου.....	45
2.4.3. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	48
2.5. Πειραματική διαδικασία.....	50
2.6. Στατιστική ανάλυση.....	53
2.6.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου.....	53
2.6.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (στάδιο απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας).....	54
2.6.3. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (στάδιο αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας).....	54
2.6.4. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	55
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	55
3.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου.....	55
3.1.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στην υπερκινητικότητα.....	55
3.1.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές κυκλικές κινήσεις στο ανοικτό πεδίο.....	56
3.1.3. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές κινήσεις της κεφαλής.....	56
3.1.4. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές αιωρήσεις του κορμού.....	56
3.1.5. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στην αταξία.....	57
3.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας.....	58
3.2.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί του δείκτη διάκρισης D κατά τη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου επί της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας.....	58
3.2.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στα εξερευνητικά επίπεδα επί της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας.....	59
3.3. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για στάδιο της αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας.....	60
3.3.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί του δείκτη διάκρισης D κατά τη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου επί της ανάκλησης ή/και αποθήκευσης της μνημονικής πληροφορίας.....	60

3.3.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στα εξερευνητικά επίπεδα επί της ανάκλησης ή/και αποθήκευσης της μνημονικής πληροφορίας.....	61
3.4. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	62
3.4.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί της δοκιμασίας κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	62
3.4.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί της κινητικής δραστηριότητας των επίμυων κατά τη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	63
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	65
4.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου.....	65
4.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου.....	66
4.3. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.....	68
4.4. BNN27 και γλουταμικό οξύ.....	70
4.4.1. DHEA, σ υποδοχείς και σχιζοφρένεια.....	71
4.4.2. DHEA, NO και σχιζοφρένεια.....	72
4.5. BNN27 και οξειδωτικό στρες.....	72
4.5. Περιορισμοί έρευνας και μελλοντικές προοπτικές.....	73
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	76

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αρκετές πειραματικές ενδείξεις επισημαίνουν τη συμμετοχή του νευροστεροειδούς δεϋδροεπιανδροστερόνη (dehydroepiandrosterone-DHEA) στη νόσο της σχιζοφρένειας. Το BNN27 είναι ένα ανάλογο της DHEA που στερείται της μεταβολικής της δραστηριότητας αλλά διατηρεί τις νευροτροφικές της επιδράσεις. Ο ρόλος του BNN27, ωστόσο, δεν έχει ακόμα καθοριστεί στη νόσο της σχιζοφρένειας. Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε για να διερευνήσει την ικανότητα του BNN27 να ανταγωνιστεί συμπεριφορικά ελλείμματα σε ζωικά πρότυπα της σχιζοφρένειας επαγόμενα από τον ανταγωνιστή του N-methyl-D-aspartate (NMDA) υποδοχέα κεταμίνη σε επίμυες.

Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες ανοικτού πεδίου (πειραματικό μοντέλο αξιολόγησης των θετικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας), αναγνώρισης νέου αντικειμένου (αξιολόγηση αναγνωριστικής μνήμης) και κοινωνικής αλληλεπίδρασης (πειραματικό μοντέλο προσομοίωσης των αρνητικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας).

Η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση BNN27 (3 και 6 mg/kg) ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από την κεταμίνη (10 mg/kg) υπερκινητικότητα στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου. Επιπλέον, το BNN27 (6 mg/kg) μείωσε τις στερεοτυπικές αιωρήσεις της κεφαλής και ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από κεταμίνη αταξία. Το BNN27 (3 και 6 mg/kg) ανταγωνίστηκε τα μνημονικά ελλείμματα στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου που αντιστοιχούν στην απόκτηση/εγγραφή και στην αποθήκευση/ανάκληση της μνημονικής πληροφορίας, που προκλήθηκαν από τη χορήγηση κεταμίνης (3 mg/kg). Επιπλέον, το BNN27 (6 mg/kg) μείωσε την

κοινωνική απομόνωση που προκλήθηκε από υποχρόνια χορήγηση κεταμίνης (8 mg/kg) στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης καταδεικνύουν ότι το BNN27 μείωσε συμπεριφορικά ελλείμματα που προκλήθηκαν από δυσλειτουργία του γλουταμινεργικού συστήματος σε πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας. Ωστόσο, μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να διεξαχθούν ώστε να καθοριστεί κατά πόσο το BNN27 είναι μια πιθανή υποψήφια επιλογή για τη θεραπεία της συγκεκριμένης ψυχιατρικής διαταραχής.

Λέξεις-κλειδιά: σχιζοφρένεια, κεταμίνη, BNN27, DHEA, επίμυς

ABSTRACT

Consistent experimental evidence suggests the involvement of neurosteroid dehydroepiandrosterone (DHEA) in schizophrenia. BNN27 is a novel DHEA analogue, which devoid of steroidogenic activity and its neurotrophic effect has been observed. Its role, however, in schizophrenia has not yet been established. Thus, the present study was designed to investigate the ability of BNN27 (3 and 6 mg/kg) to counteract schizophrenia-like behavioral deficits produced by ketamine in rats.

For this purpose, the spontaneous behavior in the open field task, the novel object recognition task (NORT) and the social interaction (SI) test were used. The spontaneous behavior in open field task is an experimental model resembling the positive symptoms of schizophrenia. NORT assesses recognition memory, a type of memory impaired in schizophrenics, while SI is an experimental model resembling the negative symptoms of schizophrenia.

Intraperitoneal (i.p.) administration of BNN27 (3 and 6 mg/kg) reversed ketamine (10 mg/kg, i.p.)-induced hypermotility in open field. Also, BNN27 (6 mg/kg) attenuated head weaving and ataxia produced by ketamine. Moreover, intraperitoneal administration of BNN27 (3 and 6 mg/kg) reversed ketamine (3 mg/kg, i.p.)-induced performance deficits in the NORT both at the acquisition and storage of memory. In addition, BNN27 (6 mg/kg, i.p.) seems to attenuate the social isolation caused by subchronic administration of ketamine (8 mg/kg, i.p.) in the SI test.

Overall, the results of the present study indicate that BNN27 attenuated schizophrenia-like deficits in animal models which were induced

by dysregulation of the glutamatergic system. The current findings, also, suggest that further studies should be carried out aiming to elucidate whether or not BNN27 might constitute a potential candidate for the treatment of this psychiatric disorder.

Key words: schizophrenia, ketamine, BNN27, DHEA, rat

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ

1.1.1 Ιστορική αναδρομή-Σημεία και συμπτώματα

Η σχιζοφρένεια είναι μια δριμεία ψυχική διαταραχή, με πιθανότητα εμφάνισης στη διάρκεια της ζωής λίγο κάτω από 1%, με κλινικά σημάδια έναρξης στη διάρκεια της εφηβείας και με κορυφή έναρξης για τους άρρενες την αρχή της δεύτερης εικοσαετίας και τρία με τέσσερα χρόνια αργότερα για τις γυναίκες (Saha και συν., 2005).

Η έννοια της σχιζοφρένειας διατυπώθηκε αρχικά από δύο Ευρωπαίους ψυχιάτρους, τον Emil Kraepelin και τον Eugen Bleuler. Το 1898, ο Kraepelin περιέγραψε για πρώτη φορά την πρώιμη άνοια (dementia praecox), όρο που χρησιμοποίησε για αυτό που σήμερα ονομάζουμε σχιζοφρένεια. Προσδιόρισε δύο ομάδες διαταραχών που τις θεώρησε ενδογενείς, δηλαδή ότι προκαλούνταν από εσωτερικά αίτια, τη μανιοκαταθλιπτική ασθένεια και την πρώιμη άνοια. Η πρώιμη άνοια συμπεριλάμβανε πολλές διαγνωστικές υποκατηγορίες όπως την παρανοειδή άνοια, την ηβηφρένεια, την κατατονία που αν και είχαν διαφορετικά συμπτώματα κατά τον Kraepelin μοιράζονταν τον κοινό πυρήνα της “πρώιμης” έναρξης της διαταραχής (σε νεαρή ηλικία) και την προοδευτική αναπόφευκτη νοητική επιδείνωση (“άνοια”, όχι όμως με την έννοια της γεροντικής άνοιας με μνημονικές δυσλειτουργίες).

Ο Bleuler, από την άλλη, διαφοροποιήθηκε από την περιγραφή του Kraepelin σε δύο βασικά σημεία: θεώρησε ότι η διαταραχή δεν έχει αναγκαστικά πρώιμη έναρξη και ότι δεν εξελίσσεται αναπόφευκτα σε άνοια, με αποτέλεσμα το 1908 να

προτείνει τον δικό του όρο, "σχιζοφρένεια". Η σχιζοφρένεια προκύπτει από τις ελληνικές λέξεις "σχίζω" ("διαχωρίζω") και "φρένα" ("νους"), όρος που αποδίδει αυτό που ο ίδιος θεωρούσε θεμελιώδη φύση του προβλήματος. Για τον Bleuler, ο κοινός παρανομαστής που οδηγούσε στη διάγνωση της σχιζοφρένειας σε ασθενείς με διαφορετική ηλικία έναρξης και συμπτώματα, ήταν "η ρήξη των συνειρμικών αλυσίδων". Κατά τον ίδιο, οι συνειρμικές αλυσίδες συνδέουν όχι μόνο τις λέξεις αλλά και τις σκέψεις. Επομένως, η στοχοκατευθυνόμενη και παραγωγική σκέψη και επικοινωνία είναι εφικτές, μόνο όταν αυτές οι υποθετικές δομές παραμένουν ακέραιες. Η υπόθεση ότι οι ασθενείς με σχιζοφρένεια παρουσιάζουν διαταραχή σε αυτές τις αλυσίδες, μπορούσε στη συνέχεια κατά τον Bleuler να χρησιμοποιηθεί για να ερμηνευθεί όλο το φάσμα των δυσκολιών (Kring και συν., 2010).

Ο Bleuler άσκησε μεγάλη επιρροή στην έννοια της σχιζοφρένειας, έτσι όπως αυτή εξελίχθηκε στις ΗΠΑ, και η διάγνωση της επεκτάθηκε σημαντικά κατά το πρώτο μισό του εικοστού αιώνα, σε αντίθεση με την Ευρώπη που έμεινε σε πιο στενά όρια. Με το πέρασμα των ετών, ιδίως από το 1980 και εξής, τα διαγνωστικά κριτήρια διαφοροποιήθηκαν, το εύρος των ασθενών που τους δινόταν διάγνωση περιορίστηκε μιας και παράλληλα διαμορφώθηκαν ξεχωριστές διαγνωστικές κατηγορίες για κάποια προβλήματα που μέχρι πρότινος θεωρούνταν επιμέρους τύποι της σχιζοφρένειας. Επίσης, η προσθήκη του κριτηρίου ότι η διαταραχή πρέπει να είναι εμφανής τουλάχιστον 6 μήνες πριν δοθεί η διάγνωση, διαφοροποίησε το ταξινομικό σύστημα διάγνωσης (Kring και συν., 2010).

Η έναρξη της σχιζοφρένειας μπορεί να είναι αιφνίδια ή υποβόσκουσα. Οι περισσότεροι ασθενείς περνούν μία πρόδρομη φάση σταδιακής και αργής ανάπτυξης των συμπτωμάτων, που περιλαμβάνει κοινωνική απομόνωση, έλλειψη ενδιαφέροντος

στη δουλειά ή στο σχολείο, παραμέληση της υγιεινής και της φροντίδας/περιποίησης, ασυνήθιστη συμπεριφορά ή ξεσπάσματα θυμού. Τα μέλη της οικογένειας συχνά βρίσκουν αυτή τη συμπεριφορά ενοχλητική και δύσκολη να την επεξεργαστούν και εξηγήσουν, υποθέτοντας ότι πρόκειται για μια δύσκολη φάση του ανθρώπου τους. Τελικά, η εμφάνιση της ενεργής/οξείας φάσης των συμπτωμάτων (ψύχωσης) δίνει τη θέση της στη διάγνωση της σχιζοφρένειας (Schultz και συν., 2007).

Δεν υπάρχει κάποιο μοναδικό σημάδι ή σύμπτωμα που να είναι παθολογικό για τη σχιζοφρένεια. Για να υπάρξει ξεκάθαρη διάγνωση, σημάδια και συμπτώματα πρέπει να είναι παρόντα για σημαντικό ποσοστό στη διάρκεια ενός μήνα ή λιγότερο αν δοθεί θεραπεία νωρίς και επιτυχώς και κάποια από αυτά πρέπει να είναι παρόντα για τουλάχιστον 6 μήνες. Αυτά τα συμπτώματα πρέπει να είναι συνδεδεμένα με σημαντική κοινωνική δυσλειτουργία και λειτουργικές δυσκολίες (American Psychiatric Association, 2013).

Επιπλέον, ένα ολοκληρωμένο ιστορικό για την ανάπτυξη και εξέλιξη των συμπτωμάτων είναι απαραίτητο τόσο από το άτομο όσο και από μέλος της οικογένειας ή στενό φιλικό πρόσωπο, διότι δίνει ακόμα μία προοπτική στη διάσταση της νόσου. Επίσης, είναι απαραίτητο και για την ορθή διαφοροδιάγνωση. Για παράδειγμα, η χρήση ναρκωτικών ουσιών μπορεί να οδηγήσει σε παρόμοια με της σχιζοφρένειας συμπτώματα, όπως και οργανικές νόσοι και διαταραχές διάθεσης με ψυχωτικά χαρακτηριστικά.

Τα βασικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας χωρίζονται σε θετικά, αρνητικά και γνωστικά συμπτώματα (American Psychiatric Association, 2013). Τα θετικά συμπτώματα της νόσου αφορούν σε επίταση της φυσιολογικής συμπεριφοράς και περιλαμβάνουν τις αφύσικες σκέψεις (παραληρητικές). Ειδικότερα, το παραλήρημα

είναι μια ακλόνητη πεποίθηση που στηρίζεται σε ανεπαρκείς ή καθόλου αποδείξεις, που δεν εξαφανίζεται παρά τις αποδείξεις για το αντίθετο και που είναι σε διάσταση με τις προηγούμενες πεποιθήσεις του ατόμου και της τρέχουσας κοινωνικής και ιστορικής συγκυρίας. Χαρακτηριστικότεροι τύποι παραληρημάτων είναι αυτοί της δίωξης, της αναφοράς/συσχέτισης και του ελέγχου. Στα θετικά συμπτώματα, επίσης, συγκαταλέγονται τα φαινόμενα παθητικού ελέγχου, δηλαδή η εκπομπή σκέψης, η εισαγωγή σκέψεων, η υποκλοπή σκέψης, τα "εισαγόμενα συναισθήματα", όπως και οι "εισαγόμενες σκέψεις". Επίσης, η θετική συμπτωματολογία περιλαμβάνει και τις αφύσικες σκέψεις. Για παράδειγμα, τις ακουστικές ψευδαισθήσεις σε δεύτερο ή τρίτο πρόσωπο, το συνεχή σχολιασμό, την ηχώ των σκέψεων και άλλα. Υπάρχουν και στη διεργασία σκέψης/λόγου συμπτώματα, όπως η χάλαση του ειρμού με ασυναρτησία και τη λεγόμενη "γλωσσική σαλάτα", το σταμάτημα της σκέψης καθώς και νεολογισμοί. Ακόμα, παρουσιάζεται αφύσικο συναίσθημα και κινητικές ανωμαλίες, όπως απρόσφορο συναίσθημα, καταληψία, κηρώδης ευκαμψία, αρνητισμός, ηχωπραξία, στερεοτυπίες, κατατονική διέγερση και κατατονική εμβροντησία.

Τα αρνητικά συμπτώματα στη σχιζοφρένεια μπορεί να θεωρηθούν ως μείωση ή έλλειψη από αυτό που φυσιολογικά ήταν παρόν, δηλαδή άμβλυνση της φυσιολογικής συμπεριφοράς. Στα αρνητικά συμπτώματα συγκαταλέγονται η απάθεια, η αλογία (όπως η πτωχεία του λόγου) το αφύσικο συναίσθημα, το επίπεδο συναίσθημα, όπως η ανηδονία, η αβουλησία, η έλλειψη κινήτρων και η κοινωνική απομόνωση. Είναι πιο επίμονα από τα θετικά, έχουν λιγότερες διακυμάνσεις στην πορεία της νόσου και έχουν πολύ σημαντικές επιδράσεις στην ψυχοκοινωνική λειτουργικότητα του ασθενούς.

Τα γνωστικά συμπτώματα είναι τα πιο επίμονα και επίμονα παρόντα στοιχεία της νόσου και είναι μαζί με τα αρνητικά από τους καλύτερους προγνωστικούς δείκτες

της μακρόχρονης έκβασης των ασθενών. Η γνωστική επίπτωση αφορά σε προβλήματα με την προσοχή και τη συγκέντρωση, τον ψυχοκινητικό λόγο, επιπλέον με τις διαταραχές και την έκπτωση στη μνήμη και τις εκτελεστικές λειτουργίες (αφηρημένη σκέψη, επίλυση προβλημάτων και άλλα). Η οπτική, αναγνωριστική και η δηλωτική μνήμη, όπως και η εργαζόμενη μνήμη, πλήττονται σημαντικά στη σχιζοφρένεια και η γνωστική υπολειτουργία ακολουθεί πορεία ξεχωριστή από τα θετικά συμπτώματα, συχνά πριν την έναρξη της ψύχωσης και διατηρείται σε όλη τη διάρκεια της ασθένειας.

Συχνά, βάσει της εκάστοτε συμπτωματολογίας του ασθενούς, η νόσος μπορεί να διαχωριστεί σε διάφορα σύνδρομα. Αρχικά, σε σύνδρομο ψυχοκινητικής πτωχείας (αρνητικά συμπτώματα), με κύρια συμπτώματα τη μείωση στην ομιλία, τις αυθόρμητες κινήσεις, την εκφραστικότητα του προσώπου και των χειρονομιών, τη μειωμένη συναισθηματική ανταποκρισιμότητα και προσωδία ομιλίας. Επίσης, υπάρχει το σύνδρομο αποδιοργάνωσης, που περιλαμβάνει κατά κύριο λόγο το απρόσφορο συναίσθημα, την ακατάληπτη και την ακατανόητη συμπεριφορά και τέλος το σύνδρομο της διαστρέβλωσης της πραγματικότητας, που προσομοιάζει περισσότερο σε αυτό που θεωρείται ως ψύχωση (θετικά συμπτώματα) και αφορά στις ψευδαισθήσεις και στα παραληρήματα (Liddle, 1987).

Η έλλειψη επίγνωσης του παθολογικού (εναισθησία) αφορά το 97% των ασθενών στην οξεία φάση της νόσου. Υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στην κλινική εικόνα στα πρώτα ψυχωτικά επεισόδια. Διαφαίνεται κάποια τάση για ύφεση της έντασης των ψυχωτικών επεισοδίων με την ηλικία, ωστόσο η νόσος θεωρείται παρατεταμένη καθώς ακόμα και ασθενείς που αναρρώνουν πλήρως μπορεί να νοσήσουν ξανά μετά από χρόνια (Kring και συν., 2010).

Τα στοιχεία για την έκβαση της νόσου δείχνουν ότι καλύτερη πρόγνωση έχουν οι γυναίκες που είναι έγγαμες σε αναπτυσσόμενες χώρες, με καλή προνοσηρή προσαρμογή, με αιφνίδια έναρξη μετά από κάποιο στρεσογόνο εκλυτικό αίτιο και με έγκαιρη θεραπεία και ιδίως όταν ενυπάρχει μεγάλη συναισθηματική αναταραχή και καλή ανταπόκριση στη θεραπεία. Χειρότερη πρόγνωση δίνεται σε άρρενες άγαμους σε αναπτυγμένες χώρες, με σχιζοειδή προνοσηρά χαρακτηριστικά και σταδιακή έναρξη της νόσου, καθώς και μεγάλη καθυστέρηση στην έναρξη της θεραπείας. Χειρότερη είναι η πρόγνωση όταν κυριαρχούν τα αρνητικά συμπτώματα και το επίπεδο συναίσθημα, οι ψυχαναγκασμοί και οι αλλόκοτες παραληρητικές ιδέες, η χρήση ουσιών και το υψηλό εκφρασμένο συναίσθημα στην οικογένεια (Kring και συν., 2010).

Το σχιζοφρενικό φάσμα (συναφείς νόσοι), αφορά το 5.5-10% του γενικού πληθυσμού και συμπεριλαμβάνει: τη σχιζοσυναισθηματική διαταραχή (0.3%), την παραληρητική διαταραχή (0.03%): δυαδική (επινεμόμενη) ψύχωση (Follie a Deux) , τη σχιζότυπη διαταραχή προσωπικότητας (3.9%), την παρανοειδή διαταραχή της προσωπικότητας (0.5-2.5%) και τη σχιζοειδή διαταραχή της προσωπικότητας (0.6-3.9%) (American Psychiatric Association, 2013).

1.1.2. Αιτιοπαθολογία σχιζοφρένειας

1.1.2.1. Επιδημιολογικές μελέτες

Κατά καιρούς έχουν γίνει πολλές προσπάθειες μέσω επιδημιολογικών μελετών για να αποσαφηνιστούν πιθανοί επιβαρυντικοί παράγοντες εμφάνισης της νόσου της σχιζοφρένειας (Leff και συν., 1992). Αρχικά, έχει διαπιστωθεί ότι η σχιζοφρένεια δεν κάνει διακρίσεις οποιουδήποτε τύπου και υφίσταται σε όλες τις κουλτούρες. Τα νέα περιστατικά το χρόνο (επίπτωση) είναι περίπου 2-4 ανά 10.000

πληθυσμού και 1 στους 100 ανθρώπους θα νοσήσει κατά τη διάρκεια της ζωής του. Αφορά όλα τα μήκη και πλάτη της γης, το ίδιο άνδρες και γυναίκες. Η έναρξη για τους άνδρες τείνει να έρχεται νωρίτερα από ότι στις γυναίκες. Υπάρχει μεγαλύτερη επίπτωση σε μετανάστες και κατοίκους μεγάλων αστικών κέντρων. Μελέτες είχαν δείξει ότι οι ασθενείς τείνουν να προέρχονται από τοκετούς που έγιναν το χειμώνα (μεταξύ Ιανουαρίου και Απριλίου στο βόρειο ημισφαίριο και μεταξύ Ιουλίου και Σεπτεμβρίου στο νότιο ημισφαίριο), χωρίς αυτό να αποτελεί θέσφατο (Mortensen και συν., 1999). Η προγεννητική έκθεση σε ιογενείς λοιμώξεις φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο νόσησης (ερυθρά, ιός της γρίπης, τοξόπλασμα, κυτταρομεγαλοϊός). Η έκθεση στον ιό της ερυθράς αυξάνει το ρίσκο νόσησης κατά 10 με 20 φορές, στον ιό της γρίπης στο πρώτο τρίμηνο της κύησης κατά 7 φορές, ενώ λοίμωξη στο μέσο της ενδομήτριας ζωής κατά 3 φορές. Η παρουσία στη μητέρα αντισωμάτων για το τοξόπλασμα (*Toxoplasma gondii*) αυξάνει το ρίσκο κατά 2.5 φορές (Brown, 2006).

Στις βιομηχανοποιημένες χώρες οι περισσότεροι ασθενείς ανήκουν σε κατώτερες κοινωνικές τάξεις. Στις αστικές περιοχές γίνονται περισσότερες εισαγωγές στα νοσοκομεία και κυρίως από τις πιο υποβαθμισμένες περιοχές. Υπάρχει η υπόθεση της "κοινωνικής διολίσθησης", ("social drift"), σύμφωνα με την οποία στην εμφάνιση της νόσου επενεργεί και η μετάβαση σε χαμηλότερη κοινωνική τάξη από την προϋπάρχουσα (Hafner και συν., 1999), αλλά και η υπόθεση της "κοινωνιογένεσης", ("social causation-urbanicity"), δηλαδή, ότι η διαβίωση σε υποβαθμισμένη κοινωνική περιοχή μπορεί να συμβάλλει στην εκδήλωση της νόσου (Torrey & Yolken, 1998). Επίσης, η μετανάστευση έχει φανεί ότι μπορεί να παίζει ρόλο στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας (Mortensen και συν., 1997).

1.1.2.2. Νευροαναπτυξιακή υπόθεση

Για την παθογένεση της νόσου έχει διατυπωθεί και νευροαναπτυξιακή υπόθεση. Αυτή ισχυρίζεται ότι η σχιζοφρένεια οφείλεται εν μέρει σε παθολογικές διεργασίες προερχόμενες από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, που αρχίζουν πριν φθάσει ο εγκέφαλος στην τελική ανατομική του κατάσταση στην εφηβεία. Η υπόθεση του "διπλού πλήγματος" λειτουργεί μέσα στο πλαίσιο της νευροαναπτυξιακής θεωρίας και υποστηρίζει ότι η αποκλίνουσα ανάπτυξη επισυμβαίνει σε δύο κρίσιμα χρονικά σημεία (πρώιμη νευροανάπτυξη και εφηβεία), ο συνδυασμός των οποίων προκαλεί τα γνωστά συμπτώματα της σχιζοφρένειας. Το πρώτο πλήγμα είναι γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν διάφορα σημεία του γονιδιώματος και το δεύτερο πλήγμα είναι το περιβαλλοντικό στρες, όπως ιογενής λοίμωξη ή λιμός, κοινωνικό στρες και άλλα (McGrath και συν., 2003).

Η νευροαναπτυξιακή θεώρηση για τη νόσο της σχιζοφρένειας κάνει λόγο για διαταραχή της φλοιϊκής γλουταμινεργικής διαβίβασης που οδηγεί δευτερογενώς σε απορρύθμιση του υποφλοιώδους ντοπαμινεργικού συστήματος. Ειδικότερα, φαίνεται να εμπλέκονται εισιόντα και εξιόντα από τον επικληνή πυρήνα (Grace, 2000). Πράγματι, ο επικληνής πυρήνας που αποτελεί το μεγαλύτερο κομμάτι του κοιλιακού ραβδώτου λαμβάνει γλουταμινεργικές προβολές από το μέσο προμετωπιαίο φλοιό, τον ιππόκαμπο και την πλαγιοραχιαία αμυγδαλή, επιπλέον της έντονης ντοπαμινεργικής εννεύρωσης από το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (VTA) (Sesack & Pickel, 1990; Zahm & Brog, 1992). Ο επικληνής πυρήνας θεωρείται ως σημείο συνάντησης ανάμεσα στα μεταιχμιακά και κινητικά συστήματα, μεταφράζοντας τις πληροφορίες που γεννιούνται από τον προμετωπιαίο φλοιό, τον ιππόκαμπο και την αμυγδαλή σε αποκρίσεις που καθοδηγούν επακόλουθες κινητικές δράσεις (Mogenson και συν., 1980).

Ο Grace (2000) πρότεινε ότι τα σχιζοφρενικά συμπτώματα ίσως προωθούνται και από μειωμένη δραστηριότητα στις γλουταμινεργικές προβολές και από τον ιππόκαμπο και από τον προμετωπιαίο φλοιό και σχετίζονται με αυξημένη επίδραση εισιόντων από την αμυγδαλή. Πράγματι, ο NMDA (N-methyl-D-aspartate) ανταγωνισμός καταστέλλει τη συναπτική αποτελεσματικότητα ανάμεσα στον ιππόκαμπο και τον επικλινή πυρήνα (Hunt και συν., 2005), ενώ ενισχύει τη συναπτική διαβίβαση ανάμεσα στην πλαγιοραχιαία αμυγδαλή και τον επικλινή πυρήνα (Kessal και συν., 2005).

1.1.2.3. Νευροεκφυλιστική θεωρία

Η προϊούσα πορεία της νόσου οδήγησε και στη διατύπωση της νευροεκφυλιστικής θεωρίας για τη σχιζοφρένεια. Σύμφωνα με αυτή, η νόσος αποδίδεται σε σταδιακή εκφύλιση των νευρώνων είτε μέσω μηχανισμών διεγερτοτοξικότητας, είτε μέσω αποπτωτικών διεργασιών. Έτσι, η συνεχής ενεργοποίηση αντισταθμιστικά γλουταμινεργικών νευρώνων οδηγεί σε αθρόα είσοδο ιόντων ασβεστίου στο μετασυναπτικό νευρώνα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων ενζύμων και την παραγωγή καταστροφικών για το κύτταρο ελευθέρων ριζών. Από την άλλη πλευρά, έχει βρεθεί ότι η μέτρια ενεργοποίηση γλουταμινεργικών νευρώνων προστατεύει από την απόπτωση επάγοντας την έκφραση αντιαποπτωτικών παραγόντων όπως η πρωτεΐνη Akt και ο νευροτροφικός παράγοντας BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor). Συνεπώς, η υπολειτουργία των NMDA υποδοχέων, που παρατηρείται και στη σχιζοφρένεια σύμφωνα με το μοντέλο της γλουταμινεργικής υπόθεσης, ενεργοποιεί αποπτωτικές διαδικασίες στα νευρικά κύτταρα (Archer, 2010· Keshavan, 1999).

1.1.2.4. Γενετικοί παράγοντες

Μελέτες οικογενειών και διδύμων δείχνουν σημαντική γενετική επίδραση για την εμφάνιση της σχιζοφρένειας, καθώς η νόσος τείνει να συγκεντρώνεται σε οικογένειες. Στο γενικό πληθυσμό, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου αφορά το 1% περίπου του παγκόσμιου πληθυσμού, αλλά σε συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών φτάνει στο 6-8%. Μελέτες υιοθετημένων αποκαλύπτουν ότι παιδιά από μητέρες με σχιζοφρένεια που υιοθετήθηκαν από θετές οικογένειες έχουν 16% ρίσκο να αναπτύξουν τη νόσο, έναντι 1% ρίσκου στην ομάδα ελέγχου (υιοθετημένα παιδιά από μη σχιζοφρενείς μητέρες). Μελέτες διδύμων, δείχνουν ότι υπάρχει 50% συμφωνία για σχιζοφρένεια στους μονοζυγωτικούς διδύμους αλλά μόνο 10% στους διζυγωτικούς (Cardno & Gottesman, 2000).

Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η σχιζοφρένεια δεν οφείλεται σε ένα γονίδιο και δεν είναι μία νόσος. Διάφοροι συνδυασμοί από πολλά επικίνδυνα γονίδια το καθένα με μικρό αποτέλεσμα μαζί με περιβαλλοντικό στρες μπορεί να πυροδοτήσουν τη νόσο. Συχνές, αλλά και σπάνιες παραλλαγές (πολυμορφισμοί) διαφορετικών γονιδίων πιθανόν να αυξάνουν τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια. Για παράδειγμα, ένα από αυτά τα γονίδια που ενοχοποιούνται με τον πιο σταθερό τρόπο από μελέτη σε μελέτη για την αύξηση του κινδύνου νόσησης είναι το NRG1 (Neuregulin 1) γονίδιο που κωδικοποιεί για ένα μόριο κυτταρικής προσκόλλησης (Craddock και συν., 2005).

Επίσης, έχει εξετασθεί και σε μεγάλο βαθμό ο ρόλος του γονιδίου COMT. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί για το ένζυμο COMT (catechol-O-methyltransferase), ένα από τα ένζυμα που συμβάλλει στη διάσπαση των κατεχολαμινών (όπως η ντοπαμίνη, η επινεφρίνη και η νορεπινεφρίνη) και άλλων ουσιών με δομή παρόμοια των κατεχολαμινών. Μιας και η ρύθμιση των κατεχολαμινών παίζει σημαντικό ρόλο σε διάφορες διαταραχές πολλά φαρμακευτικά σκευάσματα στοχεύουν στο COMT

ένζυμο, ώστε να μεταβάλουν τη δραστηριότητά του και κατ' επέκταση τη διαθεσιμότητα των κατεχολαμινών. Ένας πολυμορφισμός του ενζύμου COMT μπορεί να οδηγήσει σε μετάλλαξη της βαλίνης σε μεθειονίνη στη θέση 158 (Val¹⁵⁸ Met), οδηγώντας σε 40% μείωση της λειτουργικής δραστηριότητας του ενζύμου (αντί 75% μείωσης). Το χαμηλότερο ποσοστό καταβολισμού για το Met αλληλίο οδηγεί σε υψηλότερα επίπεδα συναπτικής ντοπαμίνης, αυξάνοντας τελικά την ντοπαμινεργική διέγερση στο μετασυναπτικό νευρώνα. Για αυτό το λόγο έχει συνδεθεί αυτός ο πολυμορφισμός με τη σχιζοφρένεια, ωστόσο πρόσφατες μελέτες δεν καταλήγουν σε οριστικό συμπέρασμα για το αν διαδραματίζει σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα νόσησης (Fan και συν., 2005).

Σημαντικό ρόλο, όμως, όπως προαναφέρθηκε παίζουν και διάφοροι τύποι στρεσογόνων εκλυτικών παραγόντων όπως πολιτισμικοί, κοινωνικοί, διαπροσωπικοί, οικογενειακές αλληλεπιδράσεις, υψηλά εκφραζόμενο συναίσθημα, γεγονότα ζωής, η μετανάστευση καθώς και η χρήση εθιστικών ουσιών-κάνναβις.

1.1.2.5. Δομικές αλλαγές

Είναι, επίσης, γνωστό ότι η σχιζοφρένεια συνδέεται με εγκεφαλικές ανωμαλίες. Συγκεκριμένα, νευροπαθολογικά ευρήματα όπως η ανώμαλη κυτταροαρχιτεκτονική και μυελίνωση, ο μειωμένος όγκος φλοιού, και ο αυξημένος όγκος κοιλιών συνηγορούν σε αυτό.

Σχετικά με δομικές αλλαγές του εγκεφάλου στη σχιζοφρένεια, παρατηρείται μακροσκοπικά η διεύρυνση των κοιλιών, συρρίκνωση των κροταφικών ελίκων και μείωση της συνεκτικότητας των οδών της λευκής ουσίας και μικροσκοπικά αλλαγές στον ιππόκαμπο και αυξημένη πυκνότητα των νευρώνων στο φλοιό (McDonald και συν., 2002).

Η σχιζοφρένεια ως μια νόσος του εγκεφάλου παρουσιάζει αντιστοίχιση ανατομίας και συμπτωμάτων, μιας και τα θετικά συμπτώματα σχετίζονται με το μεσομεταιχμιακό σύστημα, τα αρνητικά με το μεσοφλοιϊκό σύστημα, τα δε γνωστικά συμπτώματα σχετίζονται με τον άνω ραχιαίο προμετωπιαίο φλοιό, η επιθετικότητα με την αμυγδαλή και τον κογχομετωπιαίο λοβό και το συναίσθημα με τον έσω κοιλιακό προμετωπιαίο φλοιό. Η κροταφική περιοχή παίζει σημαντικό ρόλο καθώς η διαταραχή της σκέψης (χάλαση ειρμού) συνδέεται με μειωμένο πάχος του κροταφικού φλοιού, όπως και οι ψευδαισθήσεις, ενώ παράλληλα ενυπάρχει και υπερλειτουργία του κροταφικού φλοιού (Stahl & Schwartz, 2016).

Η υπόθεση του μειωμένου νευροπilhματος υποστηρίζει ότι σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της σχιζοφρένειας διαδραματίζει και η μείωση των δενδριτικών διακλαδώσεων και αξόνων στο φλοιό των ασθενών, που έχει ως αποτέλεσμα λεπτότερο φλοιό με κύτταρα που είναι πιο πυκνά πακεταρισμένα (Selemon και συν., 1998).

Η μυελίνωση και τα ολιγοδενδροκύτταρα εμπλέκονται επίσης στη παθολογία αυτής της ψυχικής διαταραχής. Η απώλεια ή τραυματισμός ενός ολιγοδενδροκυττάρου παράγει πολλές περιοχές απομυελίνωσης σε πολλούς διαφορετικούς νευράξονες. Στους σχιζοφρενείς παρουσιάστηκε 28% μείωση των ολιγοδενδροκυττάρων στη στοιβάδα III και 27% στη λευκή ουσία σε σχετική μελέτη και για αυτό διερευνάται ο ρόλος τους στη νόσο (Hof και συν., 2003).

Επιπλέον, μετά θάνατον μελέτες δείχνουν μακροσκοπικές αλλαγές σε νοσούντες, όπως σημαντικά μικρότερους υποκάμπους, παραϊπποκάμπεια έλικα, πυρήνες της αμυγδαλής και σκώληκα της παρεγκεφαλίδας, διευρυμένες πλάγιες κοιλίες και μικρότερο συνολικό βάρος του εγκεφάλου. Ιστολογικές αλλαγές παρατηρούνται με εμφάνιση αταξίας των πυραμιδικών κυττάρων στις περιοχές CA1

και CA2 του ιπποκάμπου και αυξημένη νευρωνική πυκνότητα στον προμετωπιαίο φλοιό (Pakkenberg, 1987).

1.1.2.6. Οξειδωτικό στρες και σχιζοφρένεια

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που τις τελευταίες δεκαετίες εμπλέκεται ολοένα και περισσότερο στην παθοφυσιολογία πολλών νόσων, ανάμεσά τους και στη σχιζοφρένεια, είναι το οξειδωτικό στρες που προκύπτει από τις ελεύθερες ρίζες.

Ειδικότερα, το οξειδωτικό στρες περιγράφεται ως η ανισορροπία ανάμεσα στα προοξειδωτικά/αντιοξειδωτικά προς όφελος των πρώτων, οδηγώντας σε πιθανές καταστροφές. Ελαττώνοντας τα αντιοξειδωτικά και/ή αυξάνοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών, επέρχεται οξειδωτική καταστροφή των κυτταρικών λιπιδίων, πρωτεϊνών, ενζύμων, υδατανθράκων και του DNA. Σημαντικό κομμάτι ερευνών δείχνει ότι η οξειδωτική καταστροφή υφίσταται και στη σχιζοφρένεια (Mahadik & Mukherjee, 1996· Pérez-Neri και συν., 2006). Ωστόσο, μπορεί να μην είναι η κύρια αιτία παθογένεσης, αλλά φαίνεται να συνεισφέρει στην πορεία έκπτωσης των νοσούντων και στην φτωγή αποτελεσματικότητα της διαχείρισης της νόσου (Mahadik και συν., 2001· Mukherjee και συν., 1996).

Το οξειδωτικό στρες πιθανά να είναι ένας μηχανισμός δράσης/παθογένεσης ψυχιατρικών διαταραχών, μιας και ο εγκέφαλος συγκριτικά έχει πολύ μεγαλύτερη ευαλωτότητα στην οξειδωτική καταστροφή και έχει παρατηρηθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες αυξάνονται σε ασθενείς με διάγνωση σχιζοφρένειας (Mahadik & Mukherjee, 1996· Yao και συν., 1998). Ο Young και συν. (2007) σημείωσαν ότι υπήρξε αύξηση σε καρβονυλικές ομάδες των πρωτεϊνών καθώς και καταστροφές στο DNA σχιζοφρενών, προτείνοντας την ύπαρξη οξειδωτικής αλλαγής. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως του υπεροξειδίου της δισμουτάσης (superoxide dismutase- SOD) και η περοξειδάση της γλουταθειόνης

ήταν μειωμένες και τα επίπεδα της μαλονικής αλδεΐδης (malondialdehyde) ήταν ανεβασμένα σε ασθενείς όλων των υποτύπων σχιζοφρένειας συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (Zhang και συν., 2006).

Το οξειδωτικό στρες στη σχιζοφρένεια μπορεί να προκληθεί από τα αυξημένα επίπεδα της ντοπαμίνης και με τη σειρά του να ενισχύσει τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση στο ραβδωτό, οδηγώντας σε καθυστερημένης ενάρξεως αλλά μακρόχρονη μόνιμη καταστροφή στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Tsai και συν., 1998). Άλλοι παράγοντες πρόκλησης οξειδωτικού στρες στη σχιζοφρένεια συμπεριλαμβάνουν τη γενετική προδιαθεσιμότητα, τον κατεχολαμινεργικό μεταβολισμό και τη θεραπεία με κλασσικά αντιψυχωτικά, η οποία και συνεισφέρει στην πρόωθηση του οξειδωτικού στρες.

Κλινικές μελέτες καταδεικνύουν αύξηση των προϊόντων της υπεροξειδωσίας λιπιδίων σε ασθενείς χωρίς θεραπεία (Arvindakshan και συν., 2003· Mahadik και συν., 1998· Srivastava και συν., 2001). Επίσης, υπήρξε αύξηση στο καρβοξυλικό περιεχόμενο και μείωση στο περιεχόμενο σουλφιδρύλιου των πρωτεϊνών (παράμετροι που είναι σημαντικές για την αξιολόγηση της πρωτεϊνικής καταστροφής) (Dietrich-Muszalska και συν., 2009· Dietrich-Muszalska & Olas, 2009).

1.1.2.7. Νευροχημικές υποθέσεις/Νευροδιαβιβαστικά συστήματα

Σχετικά με τις νευροχημικές υποθέσεις για την παθοφυσιολογία της νόσου οι βασικότερες κάνουν λόγο για τη συμμετοχή της ντοπαμίνης, του γλουταμικού οξέος και του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (γ- AminoButyric Acid- GABA) και προσπαθούν να συνθέσουν διάφορες μακροσκοπικές και μικροσκοπικές αλλαγές, καθώς και να συμπεριλάβουν το ρόλο γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ωστόσο, καμία σύγχρονη παθοφυσιολογική υπόθεση δεν μπορεί να ενσωματώσει όλα αυτά τα στοιχεία.

I. Ντοπαμίνη και σχιζοφρένεια

Μία από τις πρώτες θεωρίες για την αιτιοπαθολογία της σχιζοφρένειας ήταν αυτή της υπόθεσης της ντοπαμίνης. Η βάση για την ντοπαμινεργική υπόθεση της σχιζοφρένειας οφείλεται στο ότι όλα τα αντιψυχωτικά φάρμακα αποκλείουν τους D2 υποδοχείς ντοπαμίνης. Επιπλέον, η χορήγηση ντοπαμινεργικών φαρμάκων μιμείται ή επιδεινώνει τα θετικά συμπτώματα της νόσου (Howes και συν., 2015). Τα μονοπάτια της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο είναι το μελαινораβδωτό, το μεσομεταιχμιακό, το μεσοφλοιϊκό και το φυματοχοανικό (Kandel & Mack, 2014).

Το μελαινораβδωτό μονοπάτι ξεκινάει από τον πυρήνα της μέλαινας ουσίας και παρέχει ντοπαμίνη στον κερκοφόρο και τον φακοειδή πυρήνα, ένα σύμπλεγμα γνωστό και ως ραβδωτό σώμα στα βασικά γάγγλια. Χρησιμεύει για το συντονισμό και έλεγχο της δράσης και κινητικότητας. Υπολειτουργία αυτού του συστήματος, για παράδειγμα από καταστροφή των κυττάρων της μέλαινας ουσίας, οδηγεί σε ανεπαρκή προμήθεια ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα και μπορεί να προκαλέσει τη νόσο του Πάρκινσον (Tarazi, 2001).

Το δεύτερο μονοπάτι ντοπαμίνης στον εγκέφαλο ξεκινάει από την περιοχή του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου και καταλήγει στον επικλινή πυρήνα ή κοιλιακό ραβδωτό (ventral striatum) καθώς και στον αμυγδαλοειδή πυρήνα και τον ιππόκαμπο. Το μονοπάτι αυτό λέγεται μεσομεταιχμιακό και παίζει σημαντικό ρόλο στη θετική συμπτωματολογία της νόσου. Η συνέχεια αυτού του μονοπατιού λέγεται μεσοφλοιϊκό μονοπάτι, διότι καταλήγει στον μετωπιαίο λοβό και σχετίζεται με τα αρνητικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας (Tarazi, 2001).

Το τελευταίο μονοπάτι της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο λέγεται φυματοχοανικό (tubero-infundibular), ξεκινά από τον υποθάλαμο προς την υπόφυση και έχει ενδιαφέρον κυρίως σε σχέση με κάποιες παρενέργειες των αντιψυχωτικών

φαρμακοθεραπειών, όπως η αύξηση των επιπέδων της προλακτίνης (Kandel & Mack, 2014).

Έχει φανεί ότι η βαρύτητα της ψύχωσης και η υποτροπή της σχετίζεται με την δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος. Η ντοπαμίνη αναστέλλει ή ενισχύει τη λειτουργία των εγκεφαλικών περιοχών που νευρώνονται από αυτά τα μονοπάτια με τη βοήθεια υποδοχέων οι οποίοι βρίσκονται πάνω στα κύτταρα αυτών των περιοχών και υποδέχονται την ντοπαμίνη. Οι υποδοχείς ντοπαμίνης ταξινομούνται στους υποδοχείς της D1 οικογένειας, που περιλαμβάνει τους D1 και D5 υποδοχείς, και της D2 οικογένειας, που περιλαμβάνει τους D2, D3 και D4 υποδοχείς (Kandel & Mack, 2014; Tarazi, 2001).

Πολλές έρευνες κατέδειξαν ότι η εικόνα είναι πιο περίπλοκη από ότι είχε θεωρηθεί αρχικά, δηλαδή από την απλή ύπαρξη αυξημένης δραστηριότητας του ντοπαμινεργικού συστήματος στη νόσο. Τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας φαίνεται να οφείλονται σε μία υπερδραστηριότητα των D2 υποδοχέων στο μεσομεταιχμιακό σύστημα (Carlsson, 1988) και τα αρνητικά σχετίζονται με ελλείμματα/υποδραστηριότητα στη D1 σηματοδότηση στο μεσοφλοιϊκό προμετωπιαίο ντοπαμινεργικό σύστημα (Buchanan και συν., 2007) και κάτι ανάλογο συμβαίνει για την εμφάνιση των γνωστικών ελλειμμάτων (Miyake και συν., 2011).

II. Γλουταμικό οξύ και σχιζοφρένεια

Το γλουταμικό οξύ είναι ο κύριος διεγερτικός νευροδιαβιβαστής του κεντρικού νευρικού συστήματος και θεωρείται απαραίτητο για τη φυσιολογική λειτουργία του 40% των συνάψεων του εγκεφάλου. Ενυπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων: οι ιοντοτροπικοί (NMDA, AMPA -α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor-, καϊνικού) και οι μεταβολοτροπικοί (mGluR) υποδοχείς. Οι πρώτοι είναι μετασυναπτικοί διαμεμβρανικοί διάυλοι ιόντων (Na^+ , K^+ ,

Ca²⁺), ενώ οι δεύτεροι εντοπίζονται σε ποικίλες θέσεις (προσυναπτικά, μετασυναπτικά, ετεροσυναπτικά, στη γλοία) και συνδέονται με πρωτεΐνες G και συστήματα δεύτερων αγγελιοφόρων, παρέχοντας θετική ή αρνητική ανατροφοδότηση για την απελευθέρωση γλουταμικού από τον προσυναπτικό νευρώνα (Kandel & Mack, 2014).

Οι NMDA υποδοχείς είναι ευρέως κατανεμημένοι στον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό με υψηλότερες συγκεντρώσεις στον ιππόκαμπο, τον εγκεφαλικό φλοιό και τους πυρήνες του μεσεγκέφαλου και του μεταχιακού συστήματος. Εντοπίζονται στη μετασυναπτική μεμβράνη των διεγερτικών συνάψεων και εμπλέκονται σε μηχανισμούς που σχετίζονται με τη συναπτική πλαστικότητα και τη μνήμη, όπως η μακρόχρονη ενδυνάμωση (Long Term Potentiation-LTP).

Στις αρχές τις δεκαετίας του 1990, παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων NMDA του γλουταμικού προκαλεί αρνητικά, θετικά και γνωστικά συμπτώματα και επιτείνει τη συμπτωματολογία της σχιζοφρένειας σε ήδη πάσχοντες. Αυτό οδήγησε στη θεωρία της υπολειτουργίας του γλουταμινεργικού συστήματος και ειδικότερα των NMDA υποδοχέων στη σχιζοφρένεια.

Κλινικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι η χορήγηση φαικυκλιδίνης και κεταμίνης (ανταγωνιστές των NMDA υποδοχέων) παράγει παρόμοια συμπτώματα με τη σχιζοφρένεια. Ειδικότερα, σε περιπτώσεις χορήγησής των ενυπάρχει αυξημένη ευαισθησία των ασθενών στους ανταγωνιστές του NMDA, άνοια σε ασθενείς με σχιζοφρένεια και επιδείνωση των συμπτωμάτων τους, ενώ δημιουργεί αντίστοιχη συμπτωματολογία σε υγιείς. Στη σχιζοφρένεια τα επίπεδα γλουταμικού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) είναι μειωμένα, όπως και η δραστηριότητα της NAADase (ένζυμο υπεύθυνο για τη σύνθεση ασπαρτικού και γλουταμικού),

μειωμένη έκφραση NMDA και AMPA υποδοχέων του γλουταμικού στον ιππόκαμπο και το θάλαμο ασθενών.

Η γλουταμινεργική θεωρία για την αιτιοπαθογένεση της σχιζοφρένειας συνδέεται και ερμηνεύει την ντοπαμινεργική θεωρία. Συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί ότι η υπολειτουργία των NMDA υποδοχέων στο φλοιοστελεχιαίο γλουταμινεργικό κύκλωμα λαμβάνει χώρα επί ανασταλτικών GABA ενδονευρώνων, συνεπώς μειώνεται η διεγερσιμότητα των τελευταίων στο ντοπαμινεργικό κύκλωμα του μεσομεταιχμιακού συστήματος και προκαλείται απώλεια αναστολής και αυξημένη απελευθέρωση γλουταμικού στα αρχικά στάδια (Homayoun & Moghaddam, 2007). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα θετικά συμπτώματα της νόσου. Ταυτόχρονα, καθώς οι γλουταμινεργικοί νευρώνες του φλοιοστελεχιαίου κυκλώματος επικοινωνούν άμεσα με τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες του προμετωπιαίου φλοιού, η μειωμένη δραστηριότητα των πρώτων στη σχιζοφρένεια καταστέλλει τη διέγερση των δεύτερων, ερμηνεύοντας με αυτόν τον τρόπο και την αρνητική συμπτωματολογία και τα γνωστικά ελλείμματα της νόσου. Η διεγερτο-/νευρο-τοξικότητα από το υπερβολικό γλουταμικό οδηγεί σε συνακόλουθη βλάβη των νευρώνων και μείωση της απελευθέρωσης του γλουταμικού σε μεταγενέστερα στάδια και σε ψυχωτική συμπτωματολογία (Farber, 2003· Olney & Farber, 1995).

III. GABA και σχιζοφρένεια

Το GABA είναι ο σημαντικότερος ανασταλτικός νευροδιαβιβαστής. Σχηματίζεται από το γλουταμικό με την απομάκρυνση μιας καρβοξυλικής ομάδας με τη βοήθεια του ενζύμου Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) και φαίνεται να παίζει και αυτό ρόλο στην αιτιοπαθογένεση της νόσου της σχιζοφρένειας. Τα κύτταρα chandelier (‘‘πολυέλαιος’’) που είναι κύτταρα GABA, ρυθμίζουν την έξοδο του σήματος από τους πυραμιδικούς νευρώνες του προμετωπιαίου φλοιού και ως εκ

τούτου την ενδοεπικοινωνία του προμετωπιαίου και την επίδρασή του στα δίκτυα που συμμετέχει. Η ρύθμιση αυτή γίνεται με την προσεκβολή ανασταλτικών "καλύκων" στην αρχή του άξονα των πυραμιδικών κυττάρων, η πυκνότητα των οποίων σε σχετική έρευνα ήταν σημαντικά μειωμένη σε ασθενείς με σχιζοφρένεια κατά 40% σε σχέση με υγιείς και μη σχιζοφρενείς ψυχιατρικούς ασθενείς, ανεξάρτητα από τη χρήση αντιψυχωτικών φαρμάκων από τους τελευταίους (Woo και συν., 1998).

Συνολικά, αναφορικά με το ρόλο του GABA στη σχιζοφρένεια έχει διαπιστωθεί σε διάφορες μελέτες ότι ενυπάρχουν μειωμένοι GABA ενδονευρώνες στον προμετωπιαίο φλοιό, μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου GAD, μειωμένη απελευθέρωση GABA από τους ενδονευρώνες και μειωμένος μεταφορέας GABA (Taylor & Tso, 2015).

Συμπερασματικά, στη σχιζοφρένεια παρουσιάζεται απορρύθμιση του ντοπαμινεργικού συστήματος που δεν θεωρείται ότι είναι χρονικά το πρωταρχικό πρόβλημα, είναι όμως το τελικό κοινό στάδιο του εικοσαετούς δρόμου προς την ψύχωση. Θεωρείται δευτερογενής ανωμαλία, άλλων συστημάτων, κυρίως του γλουταμινεργικού και του GABA συστήματος. Τα ντοπαμινεργικά νευρικά κύτταρα ρυθμίζονται από γλουταμινεργικές προβολές σε πυρήνες του μεσεγκεφάλου, με αποτέλεσμα να είναι ευαίσθητα σε αλλαγές της λειτουργίας και διαβίβασης του γλουταμικού οξέος. Αυτό οδήγησε και στην πρόταση ότι η ντοπαμινεργική δυσλειτουργία που παρατηρείται στη σχιζοφρένεια μπορεί να είναι το δευτερογενές επακόλουθο αλλαγών στη διαβίβαση του γλουταμικού (Εικόνα 1).

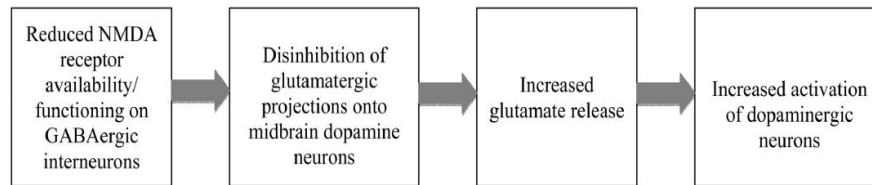


Figure 1.
Interactions between glutamatergic and dopaminergic pathways

Εικόνα 1. Αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε γλουταμινεργικά και ντοπαμινεργικά μονοπάτια, από Howes και συν. (2015), σ. 34.

Η εκδήλωση της σχιζοφρένειας, λοιπόν, είναι πολυπαραγοντικής αιτιολογίας. Χαρακτηρίζεται από γενετική προδιάθεση, δομικές αλλαγές, ανωμαλίες του κροταφικού λοβού και του προμετωπιαίου σε λειτουργικό και μικροσκοπικό επίπεδο, απώλεια GABA, συμμετοχή του γλουταμικού μέσω NMDA, ανωμαλία στα ολιγοδενδροκύτταρα και στη λευκή ουσία και αλλαγή στη δράση του ντοπαμινεργικού συστήματος καθώς και σταδιακή νευροεκφύλιση.

1.1.3. Θεραπεία σχιζοφρένειας

Η κυρίαρχη θεραπευτική αντιμετώπιση για τη σχιζοφρένεια είναι συμπτωματική και αφορά στη φαρμακολογική προσέγγιση. Ωστόσο, ρόλο έχει και η ψυχοθεραπευτική και ψυχοκοινωνική αντιμετώπιση. Τα αντιψυχωτικά φάρμακα αποτελούν τον κεντρικό κορμό της θεραπείας στην οξεία φάση της νόσου και απαραίτητο συμπλήρωμα των ψυχολογικών προσεγγίσεων κατά τα μεσοδιαστήματα μεταξύ των εξάρσεων αυτής. Ταξινομούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα κλασικά (τυπικά) αντιψυχωτικά και τα άτυπα αντιψυχωτικά.

Τα κλασικά αντιψυχωτικά (χλωροπρομαζίνη, αλοπεριδόλη, θειοριδαζίνη, σουλπιρίδη κλπ) είναι αποτελεσματικά σε ένα ποσοστό της τάξεως του 25%, δεν

αντιμετωπίζουν όμως τα αρνητικά συμπτώματα της νόσου, εμφανίζουν πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες, ωστόσο θεωρούνται αναντικατάστατα στις εξάρσεις της νόσου χάρη στην εξαιρετική κατασταλτική τους δράση. Αποκλείουν μη εκλεκτικά τους D2 υποδοχείς σε όλες τις περιοχές του εγκεφάλου. Ο αποκλεισμός της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στο μεσομεταιχμιακό σύστημα βελτιώνει τα θετικά συμπτώματα, όμως στον προμετωπιαίο φλοιό επιδεινώνει τα αρνητικά συμπτώματα, στο μελαινοραβδωτό σύστημα προκαλεί εξωπυραμιδικές εκδηλώσεις και στην πρόσθια υπόφυση προκαλεί υπερπρολακτιναιμία (Lally & MacCabe, 2015). Άλλες παρενέργειές τους είναι το κακόηθες νευροληπτικό σύνδρομο, η ορθοστατική υπόταση και η ζάλη.

Τα άτυπα αντιψυχωτικά περιλαμβάνουν την κλοζαπίνη, τη λοξαπίνη, την ολανζαπίνη, τη ρισπεριδόνη, τη ζιπρασιδόνη, την κουετιαπίνη, την αμισουλπρίδη, την αριπιπραζόλη και τη ζοτεπίνη. Τα φάρμακα αυτά διαφέρουν από τα κλασικά κατά το ότι αποκλείουν τους D2 υποδοχείς εκλεκτικά στο μεταιχμιακό σύστημα, αλλά όχι στο μελαινοραβδωτό σύστημα, ούτε στον προμετωπιαίο φλοιό. Αυτό έχει ως συνέπεια την εξάλειψη των εξωπυραμιδικών εκδηλώσεων αφ' ενός και αφ' ετέρου μια σχετική βελτίωση των αρνητικών συμπτωμάτων. Λευκοπενία, ακοκκιοκυτταραιμία (κλοζαπίνη), αύξηση σωματικού βάρους, υπεργλυκαιμία, υπερλιπιδαιμία, ηπατικές διαταραχές και καταστολή αναφέρονται ως οι σοβαρότερες παρενέργειες.

Τα αντιψυχωτικά, γενικώς, μειώνουν την υποκείμενη αυξημένη ντοπαμινεργική δραστηριότητα και έτσι ελαττώνεται η ανώμαλη απόδοση σημαντικότητας σε ερεθίσματα και ιδέες, με αποτέλεσμα σε ορισμένες περιπτώσεις την αποτροπή της δημιουργίας νέων ψυχωτικών εμπειριών. Ωστόσο, 25-50% των ασθενών δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με ανταγωνιστές των D2 υποδοχέων.

Τα άτυπα αντιψυχωτικά δεσμεύουν σε μεγάλο βαθμό τους 5-HT_{2A} υποδοχείς σεροτονίνης. Οι 5-HT νευρώνες σεροτονίνης ξεκινούν από τους ραχιαίους και μέσους πυρήνες της ραφής (dorsal and median raphe nuclei) στο στέλεχος και προβάλλουν σε όλο τον εγκέφαλο (Meneses, 1999). Προκλινικές μελέτες ανέδειξαν ότι ο αποκλεισμός των 5-HT_{2A} υποδοχέων που βρίσκονται σε υποδοχείς ντοπαμίνης στην μέλαινα ουσία συνεπάγεται μείωση της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στο ραβδωτό (αποφυγή εξωπυραμιδικών παρενεργειών) και αύξησή της στον φλοιό, δηλαδή είναι θεωρητικά θεραπευτικός για την ψύχωση. Αυτό, λοιπόν, οδήγησε στην ανάπτυξη φαρμάκων με μεγαλύτερο ανταγωνισμό των 5-HT_{2A} παρά των D₂ υποδοχέων και στη διατύπωση της θεωρίας της υψηλής 5-HT_{2A}/D₂ σχέσης (Meltzer, 1999).

Συνολικά, η θεραπευτική αντιμετώπιση έχει οδηγηθεί στην απαλλαγή από την πληγή της όψιμης δυσκινησίας (εξωπυραμιδικές παρενέργειες) με την αυξημένη χρήση των άτυπων αντιψυχωτικών και τη μείωση των δευτερογενών συμπτωμάτων, όμως τα πραγματικά αρνητικά συμπτώματα και γνωστικά ελλείμματα δεν ανταποκρίνονται στα άτυπα αντιψυχωτικά.

Έχοντας κατά νου ότι οι μέχρι σήμερα θεραπευτικές προσπάθειες αντιμετώπισης της νόσου έχουν αποδειχθεί αναποτελεσματικές ή στην καλύτερη περίπτωση συμπτωματικές, στόχος είναι να διερευνηθεί ο ρόλος και η πιθανή αποτελεσματικότητα καινοτόμων θεραπειών και προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της σχιζοφρένειας. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η στροφή στη διερεύνηση των πιθανών θεραπευτικών επιδράσεων των νευροστεροειδών και των αναλόγων τους, που όπως θα σημειωθεί παρακάτω, έχει διαπιστωθεί ότι πιθανόν παίζουν κάποιο ρόλο στη γένεση και εκδήλωση της σχιζοφρένειας.

1.2. Νευροστεροειδή

1.2.1. Ορισμός-Κατηγορίες

Ο όρος νευροστεροειδές αναφέρεται σε εκείνα τα στεροειδή που συντίθενται στο νευρικό σύστημα από νευρώνες και νευρογλοία, είτε *de novo* από την χοληστερόλη ή από μεταβολικά πρόδρομα μόρια που φθάνουν στον εγκέφαλο μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Αυτά τα στεροειδή συσσωρεύονται στο νευρικό σύστημα σε συγκεντρώσεις που είναι μερικώς, τουλάχιστον, ανεξάρτητες από το ρυθμό απέκκρισης των στεροειδών από τα επινεφρίδια, που είναι κατά βάση υπεύθυνα για την παραγωγή των. Αφορά σε όλα τα φυσικά ή συνθετικά στεροειδή που μπορούν να αλλάξουν τη διεγερσιμότητα των νευρικών κυττάρων προσδεδεμένα σε μεμβρανικούς υποδοχείς και καταδεικνύει συγκεκριμένα στεροειδή με βιολογική δραστηριότητα στο νευρικό σύστημα (Baulieu & Robel, 1990).

Ο Hans Seyle (1941) ήταν ο πρώτος που μελέτησε τα νευροστεροειδή και ανακάλυψε τις ταχύτατα αντιστρεπτές κατασταλτικές ιδιότητες μιας συγκεκριμένης κατηγορίας νευροστεροειδών. Ειδικότερα, διαπίστωσε ότι η προγεστερόνη και η δεϋδροεπιανδροστερόνη (Dehydroepiandrosterone-DHEA), όπως και πολλοί μεταβολίτες τους, εμφάνιζαν υπνωτική και αναισθητική δράση. Το 1987, οι Baulieu και Robel σε πειράματα με επίμυες αφαίρεσαν τα επινεφρίδια, τον κύριο ιστό παραγωγής και έκκρισης των στεροειδών ορμονών, και παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση των στεροειδών ορμονών ήταν υψηλότερη στον εγκέφαλο από ότι στο αίμα των επίμυων. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα στεροειδή μπορούν να συντεθούν στον εγκέφαλο (Corréhot και συν., 1981· Corréhot και συν., 1983).

Τα νευροστεροειδή είναι δυνατό να ταξινομηθούν σε δύο υποκατηγορίες: τα νευροδραστικά και τα νευροαδρανή νευροστεροειδή. Τα πρώτα είναι εκείνα τα

στεροειδή, τα οποία εκδηλώνουν τη δράση τους στους νευρικούς ιστούς, ανεξάρτητα από το αν βιοσυντίθενται στον εγκέφαλο ή σε ενδοκρινικούς ιστούς. Τα νευροαδρανή στεροειδή είναι εκείνα τα οποία βιοσυντίθενται στον εγκέφαλο, αλλά δεν εμφανίζουν δράση στους νευρικούς ιστούς.

1.2.2. DHEA και ρόλος της

Η DHEA και ο θειϊκός εστέρας αυτής, DHEAS, είναι ισχυρά νευροστεροειδή και συντίθενται στους νευρώνες και στη γλοία. Η DHEA είναι λιπόφιλο στεροειδές και μπορεί να διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η DHEAS είναι υδρόφιλο μόριο, με αποτέλεσμα να μην διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Το ένζυμο που καταλύει την μετατροπή της DHEA σε DHEAS είναι η υδροξυστεροειδής σουλφοτρανσφεράση (hydroxysteroid sulfonotransferase), που εντοπίζεται στον εγκέφαλο και διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Aldred & Waring, 1999). Η αντίστροφη διαδικασία καταλύεται από τη σουλφατάση (sulfatase), για αυτό το λόγο αυτά τα δύο μόρια έχουν την ικανότητα να αλληλομετατρέπονται και είναι αλληλένδετα.

Έχουν υψηλότερη συγκέντρωση στην περιφερική κυκλοφορία κατά τα στάδια της ανάπτυξης και της εφηβείας και στους ανθρώπους η συγκέντρωση της DHEA στον εγκέφαλο είναι 4-6,5 φορές υψηλότερη από ότι στο πλάσμα. Εκκρίνονται κατά βάση από τα επινεφρίδια, αλλά επίσης και από τον εγκέφαλο. Η εγκεφαλική DHEA δρα τοπικά με παρακρινή τρόπο και εκείνη των επινεφριδίων με συστηματικό τρόπο. Η συγκέντρωσή τους μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας, για αυτό και αποκαλούνται ορμόνες της νεότητας και έχουν συνδεθεί με νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η νόσος Alzheimer (Charalampopoulos και συν., 2008).

Η DHEA είναι ένα στεροειδές που αλληλεπιδρά με υποδοχείς στεροειδών και νευροδιαβιβαστών, δρώντας ως ενδογενές πρόδρομο της βιοσύνθεσης των ανδρογόνων, οιστρογόνων και των μεταβολιτών τους (Charalampopoulos και συν., 2008). Επηρεάζει πολλές κυτταρικές λειτουργίες του ενδοκρινικού, ανοσοποιητικού και νευρικού συστήματος. Είναι τεκμηριωμένο ότι η DHEA προστατεύει τους νευρώνες από την ανοξία, αυξάνοντας σταδιακά τα επίπεδα mRNA του νευρικού αυξητικού παράγοντα NGF (Nerve Growth Factor) που παρουσιάζει νευροπροστατευτικές ιδιότητες σε διαφόρων τύπων τραυματισμούς του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως έναντι του τραυματισμού της σπονδυλικής στήλης (Bologa και συν., 1987· Compagnone & Mellon, 2000· Xilouri και συν., 2007· Leskiewicz και συν., 2008· Marx και συν., 2000).

Μέχρι σχετικά πρόσφατα δεν είχε περιγραφεί κάποιος υποδοχέας για την DHEA, για αυτό οι περισσότερες φυσιολογικές της δράσεις αποδίδονταν στη μετατροπή της σε ανδρογόνα ή οιστρογόνα. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι η DHEA προσδέεται με μεγάλη συγγένεια σε όλους τους υποδοχείς νευροτροφινών (TrkA, TrkB, TrkC και p75^{NTR}), με μεγαλύτερη συγγένεια για τον TrkA υποδοχέα. Η αλληλεπίδρασή της DHEA με όλους τους τύπους των υποδοχέων των νευροτροφινών μπορεί να είναι σημαντική για τις πολλαπλές δράσεις της (Lazaridis και συν., 2011· Padiaditakis και συν., 2015).

Επιπλέον η DHEA ενεργοποιεί τους υποδοχείς των G πρωτεϊνών (Charalampopoulos και συν., 2006· Liu & Dillon, 2002) καθώς και πυρηνικούς υποδοχείς όπως, PPARα (peroxisome proliferator-activated receptor alpha), pregnane X, υποδοχείς οιστρογόνων (ERα, ERβ) και υποδοχείς ανδρογόνων (Chen και συν., 2005· Webb και συν., 2006).

Το 2004, οι Charalampopoulos και συν., περιέγραψαν τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης της DHEA, η οποία προστατεύει από την απόπτωση. Με βάση αποτελέσματα ερευνών υποτέθηκε ότι η DHEA νωρίς κατά την εξέλιξη δρούσε ως αρχέγονος μη ειδικός νευροτροφικός παράγοντας, που προωθούσε τη νευρωνική επιβίωση σε αρχαιότερα και λιγότερο πολύπλοκα νευρικά συστήματα (Lazaridis και συν., 2011· Pediaditakis και συν., 2015). Ακόμα, η DHEA φάνηκε να ασκεί σημαντικές νευροπροστατευτικές επιδράσεις, καθώς επάγει προεπιβιωτικά μονοπάτια σηματοδότησης μέσω ERK1/2 και Akt δραστηριότητας, αυξάνοντας την έκφραση αντιαποπτωτικών Bcl-2 πρωτεϊνών και δραστηριοποιώντας τους μεταγραφικούς παράγοντες CREB και NFκB (Pediaditakis και συν., 2015).

Επίσης, η DHEA προτείνεται πως δρα ως ενδογενής ρυθμιστής σε πρότυπα νευροφλεγμονής και δίνει τη βάση για μελλοντική χρήση θεραπευτικών χειρισμών σε νευροεκφυλιστικές παθολογίες, όπως για παράδειγμα στην πολλαπλή σκλήρυνση. Η νευροπροστασία που προσφέρει η DHEA φάνηκε και σε διάφορα παραδείγματα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, όπως στη διεγερτοτοξικότητα, την ισχαιμία και τη στέρηση θρεπτικού υλικού σε PC12 κύτταρα (Charalampopoulos και συν., 2004· Kimonides και συν., 1998· Lapchak και συν., 2000).

Ωστόσο, επειδή η DHEA μεταβολίζεται σε ανδρογόνα και οιστρογόνα και τα επίπεδά της σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ορμονοεξαρτώμενων όγκων, ιδίως σε γενετικά προδιατεθειμένους ασθενείς, περιορίζεται η μακροπρόθεσμη ευεργετική κλινική της χρήση. Αυτό το γεγονός σε συνδυασμό με την έλλειψη θεραπειών για τις περισσότερες νευροεκφυλιστικές και ψυχιατρικές νόσους και όχι μόνο, δημιουργεί την επιτακτική ανάγκη εύρεσης νέων θεραπειών και χημικών ενώσεων για τη νευρωνική προστασία, επιδιόρθωση και διάσωση, στοχεύοντας στη νευρική κυτταρική απόπτωση και επιβίωση ή νευροαναγέννηση.

1.2.3. Μικρονευροτροφίνες, ανάλογα των νευροστεροειδών

Ως λογικό επακόλουθο των προαναφερθέντων, ξεκίνησαν διάφορες προσπάθειες για τη δημιουργία αναλόγων των νευροστεροειδών που θα διατηρούν τις ευεργετικές τους επιδράσεις, απαλλαγμένα όμως των μεταβολικών παρενεργειών τους. Έτσι, δημιουργήθηκαν ανάλογα της DHEA τροποποιημένα στις θέσεις C3 ή C17, με σκοπό την ανάπτυξη των αντιαποπτωτικών/νευροπροστατευτικών τους ιδιοτήτων και την αναστολή της μετατροπής τους σε οιστρογόνα και ανδρογόνα. Αυτά τα ανάλογα ονομάζονται μικρονευροτροφίνες (Calogerouλου και συν., 2009).

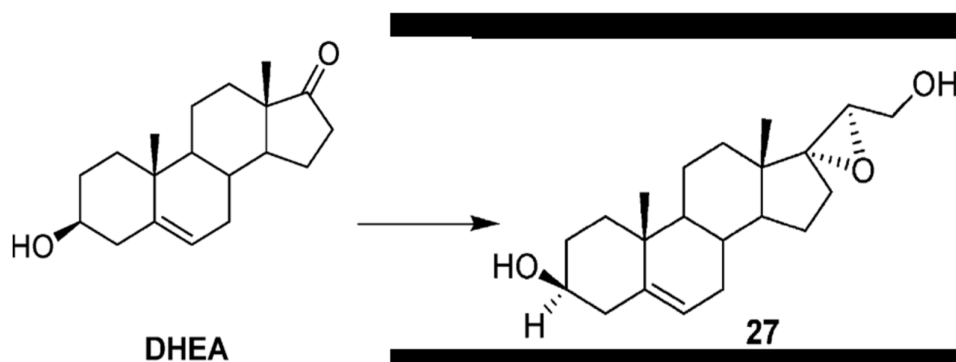
Οι πολυπεπτιδικές νευροτροφίνες [όπως ο NGF, ο, BDNF, η νευροτροφίνη-3- neurotrophin-3 (NT-3) και η νευροτροφίνη-4- neurotrophin-4 (NT-4)], παράγονται κατά κύριο λόγο στον εγκέφαλο και παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της νευρωνικής ανάπτυξης, επιβίωσης, αναγέννησης και πλαστικότητας (Chao, 2003). Επηρεάζουν την εγκεφαλική λειτουργία, ρυθμίζουν την αξονική ανάπτυξη και τη δενδριτική εκβλάστηση και συνάθροιση, καθώς και τη διαμόρφωση των συνάψεων. Οι πολλαπλές νευτροφικές και νευροπροστατευτικές τους δράσεις διαμεσολαβούνται μέσω πρόσδεσης σε συγκεκριμένους προεπιβιωτικούς υποδοχείς κινάσης τυροσίνης- tyrosine kinase (Trk) και επιπλέον, όλες οι νευροτροφίνες αναγνωρίζονται από τον παν-νευροτροφικό υποδοχέα θανάτου, $p75^{NTR}$, ο οποίος και ανήκει στην οικογένεια των TNF (Tumor Necrosis Factor) υποδοχέων (Gravanis και συν., 2017).

Οι μικρονευροτροφίνες είναι μικρά μοριακά ανάλογα της DHEA και δεν έχουν σημαντική αλληλεπίδραση με τις φυλετικές στεροειδείς ορμόνες. Διατηρούν υψηλή συγγένεια δέσμευσης με τους Trk υποδοχείς και μπορούν να μιμηθούν διάφορες δράσεις των νευροτροφινών στα νευρικά κύτταρα, όπως νευροτροφικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιαποπτωτικές δραστηριότητες (Bennett και συν., 2016).

1.3. BNN27

Το BNN27 (Εικόνα 2), είναι ένα C17 σπειροεποξειδίο (spiroepoxide) ανάλογο της DHEA, που δημιουργήθηκε στο εργαστήριο της καθηγήτριας Θεοδώρας Καλογεροπούλου και το οποίο δεν έχει συγγένεια για τους κλασικούς υποδοχείς στεροειδών (Calogeropoulou και συν., 2009). Το μόριο είναι μικρό, πολύ λιποφιλικό και διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η λιπόφιλη δομή του προσφέρει σημαντικά φαρμακολογικά πλεονεκτήματα αναφορικά με την διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Επιπλέον, διεισδύει εύκολα στο περιβάλλον της λιπόφιλης μεμβράνης, προσεγγίζοντας πολύ σημαντικά διαμεμβρανικά μέρη του υποδοχέα, όπως την κυστεΐνη 257, που παίζει κρίσιμο ρόλο στο διμερισμό του (Pediaditakis και συν., 2016· Vilar και συν., 2009).

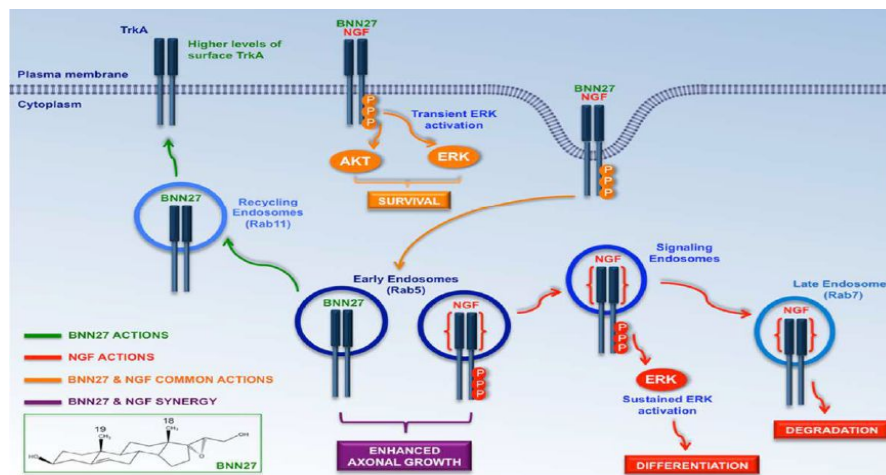
Το BNN27 αλληλοεπιδρά με τον TrkA υποδοχέα και αυτή η αλληλεπίδραση είναι σημαντική για τις νευροπροστατευτικές του δράσεις. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι ενεργοποιεί τον p75^{NTR} υποδοχέα και ασκώντας ειδικά τις φαρμακολογικές προεπιβιωτικές δράσεις του μέσω αυτών των δύο υποδοχέων, φαίνεται πιο ελπιδοφόρο από την DHEA που προσδέεται σε όλους του Trk υποδοχείς (Lazaridis και συν., 2011· Pediaditakis και συν., 2015)



Εικόνα 2. Δομή της DHEA και του αναλόγου της BNN27 (Calogeropoulou και συν., 2009).

Η νευροπροστατευτική δραστηριότητα του BNN27 αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας το κυτταρικό μοντέλο των PC12 προερχόμενων από τη νευρική ακρολοφία κυττάρων. Διαπιστώθηκε ότι αυτό το ανάλογο της DHEA είναι ικανό να προστατέψει τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας επάγοντας την έκφραση των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2, σε συνθήκες στέρησης θρεπτικού υλικού. Έχει τις ίδιες αντιαποπτωτικές επιδράσεις με την DHEA και τον NGF παράγοντα (Calogeropoulou και συν., 2009). Σε μεταγενέστερη έρευνα το BNN27 παρουσίασε μια μέτρια θεραπευτική δράση σε ζωικό πρότυπο της Πλάγιας Μυατροφικής Σκλήρυνσης (Bennett και συν., 2016; Glajch και συν., 2016).

Οι Peditidakis και συν. (2016) διαπίστωσαν, επίσης, ότι η μικρονευτροφίνη BNN27 έδρασε συνεργικά με χαμηλά επίπεδα NGF, στην προώθηση της αξονικής ανάπτυξης και διέσωσε αποτελεσματικά τους NGF εξαρτώμενους και TrkA θετικούς συμπαθητικούς και κινητικούς νευρώνες από την απόπτωση *in vitro*, *ex vivo* και *in vivo* σε NGF- null ποντίκια.



Activa
Go to Pt

Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση των δράσεων του BNN27 στη σηματοδότηση και επαναφορά του TrkA υποδοχέα (Pediaditakis και συν., 2016).

Ακόμη, φάνηκε να ευοδώνει την αποτελεσματικότητα χαμηλών επιπέδων του NGF, διευκολύνοντας την πρόσδεσή του στον TrkA υποδοχέα και επάγοντας τη γρήγορη επιστροφή του ενσωματωμένου-εσωτερικοποιημένου TrkA υποδοχέα στην νευρική κυτταρική μεμβράνη (Εικόνα 3) (Pediaditakis και συν., 2016).

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το BNN27 δε διαθέτει τις υπεραλγητικές ιδιότητες του NGF και επιπλέον είναι τεκμηριωμένο από προκλινικές έρευνες ότι έχει μικρή τοξικότητα. Αλληλεπιδρά με τους p75^{NTR} υποδοχείς σε συγκεκριμένα τμήματα αμινοξέων, επάγοντας την στρατολόγηση του p75^{NTR} υποδοχέα στις effector/επιτελεστικές πρωτεΐνες RIP2 και TRAF6 και συγχρόνως απελευθερώνει την RhoGDI σε πρωτογενή νευρικά κύτταρα. Ειδικότερα, έρευνα κατέδειξε ότι η ενεργοποίηση του p75^{NTR} υποδοχέα από το BNN27 αναστρέφει την προκαλούμενη λόγω στέρησης ορού κυτταρική απόπτωση. Συμπερασματικά, το BNN27 φαίνεται σαν ένα πιθανό μόριο για την ανάπτυξη νέων προσδεμάτων για τον p75^{NTR} υποδοχέα, που θα ελέγχουν συγκεκριμένα p75^{NTR} εξαρτώμενα σηματοδοτικά μονοπάτια κυτταρικής μοίρας, με πιθανές εφαρμογές σε θεραπευτικές νευροεκφυλιστικές νόσους και εγκεφαλικούς τραυματισμούς (Pediaditakis και συν., 2016).

Επιπρόσθετα, σε πρόσφατη συμπεριφορική προκλινική μελέτη αποδείχθηκε ότι η χορήγηση BNN27 (3 και 10 mg/kg) ανταγωνίστηκε τα ελλείμματα αναγνωριστικής μνήμης (Pitsikas & Gravanis, 2017).

Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι το BNN27 αντιστρέφει την επαγόμενη από διαβήτη αμφιβληστροειδική καταστροφή ενεργοποιώντας τον υποδοχέα του NGF, TrkA, μειώνοντας την προκαλούμενη από τον p75^{NTR} υποδοχέα διαχωρισμό της

κασπάσης 3 και ενεργοποιώντας τη γλοία, αλλά και αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες (Ibán-Agias και συν., 2017). Σε κάποιες μελέτες, διαφάνηκε ότι συστηματική τοπική χορήγηση οφθαλμικών σταγόνων BNN27 μπορεί να μιμηθεί αποτελεσματικώς τις ωφέλιμες δράσεις του NGF ενάντια στην εκφύλιση του αμφιβληστροειδούς σε επαγόμενους από στρεπτοζοτοκίνη διαβητικούς επίμυες, καθώς και στην αποκόλληση αμφιβληστροειδούς σε ποντίκια (Gravanis και συν., 2017).

1.4. Σχιζοφρένεια και DHEA

Οι μέχρι σήμερα αντιψυχωτικές θεραπείες είναι αποτελεσματικές στη θεραπεία των συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας και όχι στη θεραπεία της νόσου αυτής καθαυτής, με αποτέλεσμα η συνολική κλινική απόκριση να παραμένει ανεπαρκής και ανολοκλήρωτη. Έως και σήμερα καμία αγωγή δεν είναι αποτελεσματική στα αρνητικά συμπτώματα και τα γνωστικά ελλείμματα, αλλά περιορίζονται σε δράσεις στη θετική συμπτωματολογία. Επιπλέον, ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών σταματά την αντιψυχωτική αγωγή μέσα στους πρώτους 18 μήνες θεραπείας. Η πλειονότητα προχωρά στη διακοπή εξαιτίας της αναποτελεσματικότητας της αγωγής ή της δυσκολίας διαχείρισης των ανεπιθύμητων παρενεργειών αυτής. Μάλιστα, για το 1/3 και παραπάνω των ασθενών καμία θεραπευτική αγωγή δεν είναι αποτελεσματική (Ritsner, 2010). Επομένως, η ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών θεραπειών είναι πολύ σημαντική.

Μια σειρά κλινικών και προκλινικών μελετών προτείνει τη εμπλοκή των νευροστεροειδών (συμπεριλαμβανομένης της DHEA/S) στη σχιζοφρένεια. (Frau και συν., 2015). Συγκεκριμένα, διάφορες μελέτες εμφάνισαν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τα επίπεδα ορού της DHEAS στους σχιζοφρενείς ασθενείς. Ειδικότερα, μια σειρά μελετών κατέγραψε υψηλότερα επίπεδα της DHEAS σε

ασθενείς με σχιζοφρένεια (Babinkostova και συν., 2015· Albayrak και συν., 2014· Peng & Li, 2017), όπως και υψηλότερα επίπεδα DHEA σε ασθενείς υπό θεραπεία συγκριτικά με τους υγιείς (Michele και συν., 2005· Gallagher και συν., 2007· Ritsner και συν., 2006· Ritsner και συν., 2007).

Χαμηλότερα επίπεδα DHEA βρέθηκαν σε ασθενείς που δεν λάμβαναν αγωγή (Bicikova και συν., 2011), όπως και χαμηλότερα επίπεδα DHEAS (Ritsner και συν., 2006). Από τη άλλη, σε κάποιες έρευνες δεν εντοπίστηκαν διαφορές στα επίπεδα της DHEAS σε ασθενείς σε διαφορετικές φάσεις της νόσου (Beyazyuz και συν., 2014· Riahi και συν., 2016· Shirayama και συν., 2002· Yilmaz και συν., 2007). Οι Ritsner και συν. (2005) διαπίστωσαν ότι τα παρατηρηθέντα αντικρουόμενα επίπεδα της DHEA/S μπορεί να σχετίζονται με την αποκρισιμότητα στην αντιψυχωτική θεραπεία.

Η αποτελεσματικότητα της DHEA κατά των συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας αναδείχθηκε από την ερευνητική ομάδα του Strous. Χορήγηση DHEA (25-100 mg/ημέρα, 6 βδομάδες, παράλληλα με αντιψυχωτική θεραπεία), σε ασθενείς με σχιζοφρένεια μείωσε σημαντικά τα αρνητικά συμπτώματα της νόσου (Strous και συν., 2003). Επιπλέον, οι Ritsner και συν.(2008) και οι Nachshoni και συν. (2005) παρατήρησαν ότι η DHEA βελτίωσε τα εξωπυραμδικά συμπτώματα σε σχιζοφρενείς τα οποία είναι συχνή παρενέργεια της αντιψυχωτικής θεραπείας.

Σε συμφωνία με τα προαναφερθέντα μια πρόσφατη προκλινική έρευνα συνηγορεί για ένα πιθανό θεραπευτικό ρόλο της DHEA στη σχιζοφρένεια. Συγκεκριμένα, οι Maayan και συν. (2012) χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία τη προπαλμικής αναστολής διαπίστωσαν ότι η προχορήγηση DHEA αναστρέφει τα προκαλούμενα από την PIC (polyribonucleosinic-polyribocytidilic-acid, πολυριβοϊμινοσινικό-πολυριβοκυτιδικό οξύ) ελλείμματα προσοχής στους επίμυες.

Είναι τεκμηριωμένο ότι η DHEA έχει σημαντικές βιολογικές δράσεις. Ειδικότερα, προωθεί τη σωματική υγεία μειώνοντας τα επίπεδα της αντίστασης της ινσουλίνης και μειώνοντας τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες, που έχουν ένα επιβαρυντικό ρόλο στη σχιζοφρένεια (Weiss και συν., 2011). Επιπλέον οι βιολογικές δράσεις της DHEA/S περιλαμβάνουν τη νευροπροστασία κατά της απόπτωσης, της επαγόμενης από το NMDA διεγερτοτοξικότητας και της οξειδωτικής καταστροφής. Η μείωσή της κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης, και στο παράδειγμά μας της σχιζοφρένειας, μπορεί να αφήνει απροστάτευτο τον εγκέφαλο σε νευροτοξικές προκλήσεις όπως και σε ιικές μολύνσεις που μπορεί να συμβάλλουν στην εκδήλωση της νόσου.

1.5. Στόχοι μελέτης

Καθώς παραμένει άγνωστος ο ρόλος και η δράση του BNN27 σε ένα μεγάλο φάσμα νευροεκφυλιστικών και ψυχιατρικών διαταραχών, στόχος της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του BNN27 σε πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας, μέσα από μεθόδους συμπεριφορικής φαρμακολογίας.

Ειδικότερα, η βιβλιογραφική ανασκόπηση κατέδειξε ότι υπάρχει αρκετό ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από το ρόλο των νευροστεροειδών στη νόσο της σχιζοφρένειας. Για αυτό το λόγο, στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση της πιθανής ευεργετικής επίδρασης του BNN27 σε πειραματικό πρότυπο σχιζοφρένειας, επαγόμενο από υποαναισθητικές δόσεις κεταμίνης, καθώς το BNN27 διατηρεί όλες τις ωφέλιμες επιδράσεις της DHEA χωρίς τα αρνητικά επακόλουθα του μεταβολισμού της.

Η κεταμίνη προκαλεί έκπτωση γνωστικών λειτουργιών, ανάλογη της έκπτωσης που παρατηρείται σε πάσχοντες από σχιζοφρένεια. Προκαλεί επιδείνωση των συμπτωμάτων σε πάσχοντες και πρόκληση συμπτωμάτων σχιζοφρένειας σε υγιείς. Επιπρόσθετα, προκαλεί ένα σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες και αταξία, το οποίο θεωρείται πειραματικό πρότυπο θετικών συμπτωμάτων. Ακόμα, επάγει κοινωνική απόσυρση σε πειραματόζωα, που χρησιμοποιείται ως πειραματικό πρότυπο των αρνητικών συμπτωμάτων της νόσου, καθώς και γνωστικά ελλείμματα.

Οι επαγόμενες από την κεταμίνη υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες και αταξία μελετήθηκαν στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου. Η διερεύνηση πιθανής ευεργετικής δράσης του BNN27 επί των προκαλούμενων από την κεταμίνη γνωστικών ελλειμμάτων (μνήμης) έγινε χρησιμοποιώντας τη διαδικασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου. Τέλος, η ικανότητα του BNN27 να αναστρέψει την κοινωνική απόσυρση που προκαλούν οι υποαναισθητικές δόσεις της κεταμίνης μελετήθηκε μέσω της δοκιμασίας κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματόζωα

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν άρρενες επίμυες του γένους Wistar rat. Κατά τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών το βάρος των επίμυων ήταν 250-350 γραμμάρια και η ηλικία τους 2-3 μηνών. Τα πειραματόζωα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό και διαβίωναν ανά τρία σε ίδια κλουβιά (45 cm x 20 cm x 35 cm) με σταθερές συνθήκες διαβίωσης για όλα τα ζώα, ήτοι κυκλικό φωτισμό, 12

ώρες φως (7.00 π.μ.-7.00 μ.μ) και 12 ώρες σκοτάδι (7.00 μ.μ.-7.00 π.μ.), σχετική υγρασία 50-55%, θερμοκρασία περιβάλλοντος $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ και χώρο καλά αεριζόμενο.

Ο χειρισμός των πειραματόζωων έγινε σε συμφωνία με εθνικές και διεθνείς οδηγίες, όπως ορίζονται από τα νομικά πλαίσια του κράτους και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EEC Council Directive 86/609, JL 358, 1, December 12, 1987; NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals, NIH publication no.85-23, 1985).

2.2. Φάρμακα

Όλα τα φαρμακευτικά σκευάσματα παρασκευάζονταν την εκάστοτε ημέρα των πειραματικών διαδικασιών και η χορήγηση γινόταν ενδοπεριτοναϊκά σε αναλογία 1 ml/kg. Το BNN27 [(R)-3b,21-dihydroxy-17R,20-epoxy-5-pregnene] είχε συντεθεί στο Εθνικό Ίδρυμα Έρευνας (Calogeropoulou και συν., 2009) και αραιώθηκε σε φυσιολογικό ορό (0.9%, NaCl) αποτελούμενο από 0.1% Tween 80, υποβλήθηκε σε κατεργασία με υπερήχους για 5 λεπτά και χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά. Η υδροχλωρική κεταμίνη αραιώθηκε σε φυσιολογικό ορό (0.9% NaCl). Στους επίμυες μάρτυρες χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά ισόποσα φυσιολογικός ορός σε κάθε μελέτη.

2.3. Πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας

Η σχιζοφρένεια είναι μια νόσος με ευρύ φάσμα συμπτωμάτων. Ως εκ τούτου οποιαδήποτε απόπειρα πειραματικού προτύπου της νόσου οφείλει να αναπαράγει τις τρεις κύριες κατηγορίες συμπτωμάτων: τα θετικά, τα αρνητικά και τα γνωστικά συμπτώματα.

Έχοντας ως γνώμονα τα ανωτέρω χρησιμοποιήθηκαν 4 χωριστές πειραματικές διαδικασίες για την αξιολόγηση της επίδρασης του BNN27 σε πειραματικά πρότυπα

σχιζοφρένειας: για τα θετικά συμπτώματα η δοκιμασία ανοικτού πεδίου, για τα γνωστικά ελλείμματα τόσο στο μνημονικό στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας όσο και στο μνημονικό στάδιο της αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου και τέλος για τα αρνητικά συμπτώματα η δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

Κοινό στοιχείο και στα τέσσερα πειραματικά πρότυπα ήταν η πρόκληση παθολογικών συμπτωμάτων σχιζοφρένειας με τη χρήση κεταμίνης, ενός μη συναγωνιστικού ανταγωνιστή του NMDA υποδοχέα, με ταχεία έναρξη δράσης και μικρό χρόνο ημίσειας ζωής. Η κεταμίνη σε υποαναισθητικές δόσεις επάγει στα πειραματόζωα ένα σύνδρομο που περιλαμβάνει υπερκινητικότητα, αταξία, στερεοτυπίες, κοινωνική απόσυρση και γνωστικά ελλείμματα. Ως εκ τούτου χρησιμοποιείται ευρέως σε πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας (Becker & Grecksch, 2004· Pitsikas και συν., 2008).

Ο μηχανισμός με τον οποίο η κεταμίνη παράγει ψυχομιμητικές επιδράσεις έχει εν μέρει αποδοθεί στην αναστολή των NMDA υποδοχέων που βρίσκονται στους ενδονευρώνες GABA, που εν συνεχεία οδηγεί σε αποαναστολή της νευρωνικής δραστηριότητας σε μεταχιακές περιοχές (Moghaddam και συν., 1997). Αυτό, επάγει υπερδιέγερση στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και τελικά, τα κλασσικά υπερντοπαμινεργικά χαρακτηριστικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας (Homayoun & Moghaddam, 2007). Αυτές οι αποανασταλτικές δράσεις αυξάνουν τη νευρωνική δραστηριότητα και προκαλούν αυξημένη γλουταμινεργική και ντοπαμινεργική απελευθέρωση στον προμετωπιαίο φλοιό και στις μεταχιακές περιοχές (Moghaddam και συν., 1997· Razoux και συν., 2007).

2.4. Πειραματικές Δοκιμασίες

2.4.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου

Η δραστηριότητα ανοικτού πεδίου αξιολογείται σε έναν κλωβό κινητικότητας (Ugo Basile, Varese, Italy) (Εικόνα 4). Ο κλωβός (50 cm x 50 cm x 33 cm) φέρει πλαστικά, διαφανή τοιχώματα και οροφή και συνδέεται με συσκευή ψηφιακής καταγραφής της κινητικότητας του πειραματόζωου. Κάθε κίνηση του πειραματόζωου καταγράφεται και παράγει ένα σήμα, το οποίο αυτόματα μετατρέπεται σε αριθμούς που αντανakλούν το μέτρο της οριζόντιας κινητικότητας των επίμυων.

Κάθε πειραματόζωο χρησιμοποιείται μόνο μια φορά στην πειραματική διαδικασία. Την ημέρα της διεξαγωγής του πειράματος, μετά από δεκάλεπτη εξοικείωση στον κλωβό, τα πειραματόζωα λαμβάνουν την κατάλληλη φαρμακολογική θεραπεία και κατόπιν τοποθετούνται στην πειραματική διάταξη για 10 λεπτά, στη διάρκεια των οποίων βιντεοσκοπείται η δραστηριότητά τους και καταγράφεται η κινητικότητά τους. Ο παρατηρητής αποχωρεί από το δωμάτιο, ώστε η παρουσία του να μην επηρεάζει τη συμπεριφορά του πειραματόζωου (Denenberg, 1969).

Έπειτα γίνεται η επεξεργασία των δεδομένων κατά την οποία ελέγχουμε τις εξής παραμέτρους: την κινητικότητα, τις στερεοτυπικές κυκλικές κινήσεις μέσα στον κλωβό, τις στερεοτυπικές κινήσεις της κεφαλής, τις στερεοτυπικές αιωρήσεις του σώματος και την αταξία. Τα πειραματόζωα λαμβάνουν ένα σκορ (0) για την απουσία ή (1) για την παρουσία κάθε χαρακτηριστικού, ενώ επιπλέον για την αταξία υπάρχει στην κλίμακα του σκορ και το (2), όταν τα πειραματόζωα είναι σχεδόν ανίκανα να κινηθούν.

Για την αποφυγή οποιασδήποτε οσφρητικής ένδειξης, η συσκευή καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος καθαρίζεται με 20% αιθανόλη και σκουπίζεται με χαρτί μετά από κάθε δοκιμή.



Εικόνα 4. Κλωβός κινητικότητας.

2.4.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου

Για να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα του BNN27 σε γνωστικά ελλείμματα οφειλόμενα σε αποκλεισμό του NMDA υποδοχέα, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου, μια συμπεριφορική τεχνική που αξιολογεί την αναγνωριστική μνήμη στους επίμυες (Ennaceur & Delacour, 1988). Αυτή η πειραματική δοκιμασία βασίζεται στη φυσική τάση των επίμυων να εξερευνούν νέα αντικείμενα.

Η πειραματική διάταξη αποτελείται από ένα πλαστικό χώρο διαστάσεων 80 cm x 60 cm x 50 cm, που φωτίζεται από φως 60-W, ευρισκόμενο 60 εκατοστά πάνω

από την κατασκευή (Εικόνα 5). Η ένταση φωτισμού είναι ισόποση σε όλα τα μέρη της κατασκευής. Τα αντικείμενα (σε 3 αντίγραφα το καθένα), που πρέπει να αναγνωρισθούν είναι κατασκευασμένα από διαφορετικά υλικά (γυαλί, πλαστικό ή μέταλλο) και έχουν διαφορετικά σχήματα: μεταλλικοί κύβοι, γυάλινες πυραμίδες, πλαστικοί κύλινδροι 7 εκατοστών ύψους, τα οποία δεν μπορούν να μετακινηθούν από τα πειραματόζωα.

Εν συντομία, μια εβδομάδα πριν την πειραματική δοκιμασία, τα πειραματόζωα εξοικειώνονται με τον πειραματιστή δύο φορές τη μέρα για τρεις συνεχόμενες μέρες. Η δοκιμασία εκτελείται σε δύο περιόδους (Boultadakis & Pitsikas, 2010). Πριν τη δοκιμασία, οι επίμυες τοποθετούνται στην πειραματική συσκευή για να εξοικειωθούν στο χώρο για 2 λεπτά, 2 συνεχόμενες μέρες. Σε αυτή τη φάση δεν υπάρχουν αντικείμενα μέσα στην πειραματική συσκευή. Η δοκιμασία μνήμης πραγματοποιείται την τρίτη ημέρα. Τα ζώα εκτελούν δύο δοκιμές διάρκειας 2 λεπτών έκαστη. Κατά τη διάρκεια της πρώτης δοκιμής, που ονομάζεται δοκιμή εκπαίδευσης T1 (sample trial), δύο ίδια αντικείμενα τοποθετούνται σε δύο αντίθετες γωνίες του πειραματικού χώρου, 10 εκατοστά από τα πλαϊνά τοιχώματα. Ο επίμυς τοποθετείται στο κέντρο της συσκευής και του επιτρέπεται να εξερευνήσει τα δύο αντικείμενα για όλη τη χρονική διάρκεια της δοκιμής.

Μετά την ολοκλήρωση της T1 το πειραματόζωο επιστρέφει στον κλωβό και δίδεται ένα μεσοδιάστημα (intertrial interval-ITI) διάρκειας 1 ώρας. Ακολούθως, πραγματοποιείται η δεύτερη δοκιμή, η δοκιμή επιλογής T2 (choice trial). Αυτή τη φορά ένα νέο αντικείμενο (N) έχει αντικαταστήσει ένα από τα δύο ίδια αντικείμενα της πρώτης δοκιμής. Συνεπώς, οι επίμυες καλούνται να εξερευνήσουν δύο διαφορετικά αντικείμενα σ' αυτή τη δοκιμή: το ήδη γνωστό αντικείμενο (F) και το

νέο (N). Αν ο επίμυς κατά την T2 εξερευνήσει για περισσότερο χρόνο το νέο από το ήδη γνωστό αντικείμενο αυτό αποτελεί ένδειξη καλής μνήμης. Όλοι οι συνδυασμοί και οι τοποθεσίες των αντικειμένων λαμβάνουν χώρα για να μην υπάρξει πιθανή προκατάληψη προκαλούμενη από την προτίμηση για συγκεκριμένες τοποθεσίες, υφή ή αντικείμενα. Για την αποφυγή οσφρητικών ενδείξεων μετά από κάθε δοκιμή η κατασκευή καθαρίζεται από 20% αιθανόλη και χαρτί.

Η εξερεύνηση ορίζεται ως η άμεση κατεύθυνση της μύτης του πειραματόζωου προς το εκάστοτε αντικείμενο σε απόσταση 2 εκατοστών ή λιγότερο και/ή επαφή της μύτης με το αντικείμενο. Περιστροφή γύρω από το αντικείμενο ή στάση επάνω στο αντικείμενο δεν θεωρείται εξερευνητική δραστηριότητα. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ο παρατηρητής καταγράφει με χρονόμετρο τους χρόνους εξερεύνησης (σε s) έκαστου αντικείμενου τόσο κατά την T1 όσο και κατά την T2. Απ' αυτή την καταγραφή εξάγεται μια σειρά μεταβλητών: α) ο ολικός χρόνος εξερεύνησης των αντικειμένων κατά την T1, β) ο ολικός χρόνος εξερεύνησης των αντικειμένων κατά την T2 και γ) ο δείκτης διάκρισης D, ο οποίος υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$D (\text{Δείκτης διάκρισης}) = \frac{N-F}{N+F},$$

όπου N ο ολικός χρόνος εξερεύνησης του νέου αντικείμενου κατά την T2 και F ο ολικός χρόνος εξερεύνησης του γνωστού αντικείμενου κατά την T2. Όσο υψηλότερος είναι αυτός ο δείκτης, τόσο υψηλότερη είναι και η μνημονική επίδοση των πειραματόζωων σε αυτή τη δοκιμασία (Cavoy & Delacour, 1993).

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι επιτρέπει τη διερεύνηση των διαφόρων σταδίων της μνήμης. Αν μια ουσία χορηγηθεί πριν την T1

θα επιδράσει στην απόκτηση/εγγραφή της πληροφορίας. Αν χορηγηθεί αμέσως μετά την T1 θα επιδράσει κυρίως στην αποθήκευση ή και στην ανάκληση της πληροφορίας. Τέλος, αν μια ουσία χορηγηθεί ακριβώς πριν την T2 επηρεάζει αποκλειστικά την ανάκληση της πληροφορίας. Στο συγκεκριμένο πειραματικό σχεδιασμό υπήρξαν 2 διαφορετικοί χειρισμοί. Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση του BNN27 στο μνημονικό στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της πληροφορίας καθώς έλαβε χώρα χορήγηση ουσιών πριν την T1 δοκιμή και στη συνέχεια, σε επόμενη πειραματική διάταξη, εξετάστηκε η αποθήκευση ή/και ανάκληση της πληροφορίας, με χορήγηση των ουσιών μετά την T1 δοκιμή.



Εικόνα 5. Πειραματική διάταξη δοκιμασίας αναγνώρισης νέου αντικειμένου.

2.4.3. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης

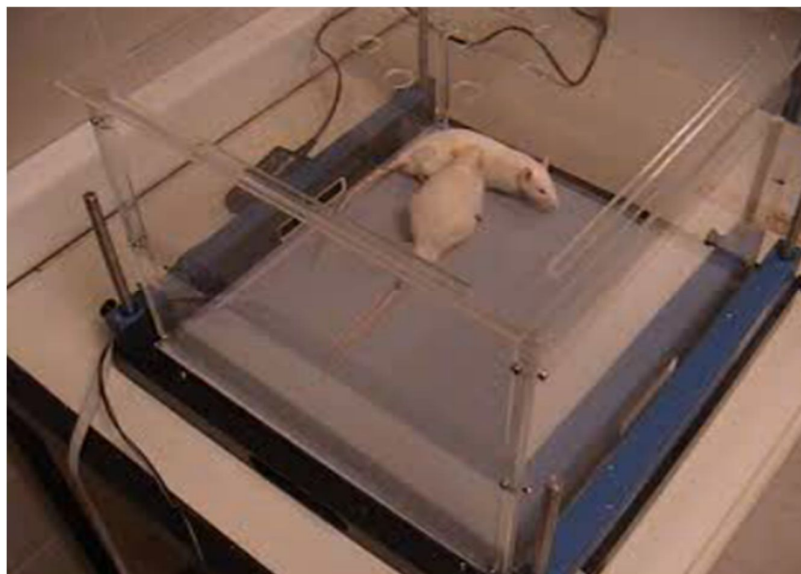
Η πειραματική διάταξη αποτελείται από τον κλωβό κινητικότητας (Ugo Basile, Varese, Italy) που περιγράφηκε ανωτέρω για τη δοκιμασία ανοικτού πεδίου (Εικόνα 6). Ως ζωικό πειραματικό πρότυπο αρνητικών συμπτωμάτων χρησιμοποιήθηκε η συμπεριφορική δοκιμασία της κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Η

δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης είναι μια προσαρμογή αυτών που είχαν διενεργηθεί σε δύο προηγούμενες μελέτες (Koros και συν., 2007· O'Shea και συν., 2006). Οι επίμυες χρησιμοποιούνται μία φορά.

Την εβδομάδα πραγματοποίησης της δοκιμασίας τα πειραματόζωα εξοικειώνονται με τον πειραματιστή για 3 συνεχόμενες μέρες. Εν συνεχεία, για δύο συνεχόμενες μέρες, αναλόγως της πειραματικής ομάδας που ανήκουν, λαμβάνουν είτε φυσιολογικό ορό είτε κεταμίνη. Φυσιολογικό ορό λαμβάνουν τα πειραματόζωα των ομάδων ελέγχου, ενώ κεταμίνη των υπόλοιπων ομάδων. Την τρίτη μέρα, δύο πειραματόζωα που έχουν αντιστοιχιστεί, δηλαδή έχουν λάβει ίδια αγωγή, έχουν παρόμοιο βάρος (μέχρι 10 γραμμάρια απόκλιση) και είναι άγνωστα μεταξύ τους (δηλαδή προέρχονται από διαφορετικά κλουβιά), τοποθετούνται ταυτόχρονα στον κλωβό κινητικότητας και αφήνονται ελεύθερα για 10 λεπτά, κατά τη διάρκεια των οποίων βιντεοσκοπείται η δραστηριότητά τους και καταγράφεται η κινητικότητά τους. Ο παρατηρητής αποχωρεί από το δωμάτιο, ώστε η παρουσία του να μην επηρεάζει τη συμπεριφορά του πειραματόζωου. Για την αποφυγή οσφρητικών ενδείξεων, ο κλωβός καθαρίζεται με 20% αιθανόλη και χαρτί, μετά από κάθε δοκιμή.

Έπειτα γίνεται η επεξεργασία των δεδομένων κατά την οποία ελέγχονται δύο παράμετροι: ο χρόνος που το ζεύγος των επίμυων αφιέρωσε σε κοινωνική αλληλεπίδραση και η κινητικότητα ως δείκτης γενικής δραστηριότητας. Ως κοινωνική αλληλεπίδραση ορίζεται η συμπεριφορά εκείνη κατά την οποία οποιοδήποτε μέλος του ζεύγους ακολουθεί, καθαρίζει, οσμίζεται, δαγκώνει, σκαρφαλώνει ή μάχεται το άλλο (Koros και συν., 2007· O'Shea και συν., 2006). Το διάστημα του χρόνου που πέρασε κάθε ζεύγος στις παραπάνω συμπεριφορές αθροίζεται για να παραχθεί ένα σκορ κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Επιπλέον, η

κινητική δραστηριότητα εκφράζεται ως ο συνολικός αριθμός μετακινήσεων κάθε ζεύγους κατά τη δεκάλεπτη περίοδο παρατήρησης και καταγραφής.



Εικόνα 6. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

2.5. Πειραματική διαδικασία

Οι πειραματικές δοκιμασίες λάμβαναν χώρα μεταξύ 10:00 π.μ. και 15:00 μ.μ., σε δωμάτιο όπου μόνο αυτά τα πειραματόζωα φυλάσσονταν. Η συμπεριφορά των πειραματόζωων βιντεοσκοπήθηκε. Η καταγραφή και αξιολόγηση της συμπεριφοράς τους γινόταν από παρατηρητές που δε γνώριζαν την εφαρμοσθείσα φαρμακευτική αγωγή.

Πείραμα 1: επιδράσεις του BNN27 στην επαγόμενη από χορήγηση κεταμίνης υπερκινητικότητα, στερεοτυπία και αταξία.

Η κεταμίνη χρησιμοποιήθηκε σε δόση των 10 mg/kg, δόση που βασίστηκε σε προηγούμενα και σε δικά μας αδημοσίευτα δεδομένα καθώς στη συγκεκριμένη δόση προκαλεί ψυχομιμητικές επιδράσεις (υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες, αταξία)

(Razoux και συν., 2007) και επιτρέπει την ανίχνευση αλλαγών στη συμπεριφορά, όπως μείωση των ψυχομιμητικών επιπτώσεων εξαιτίας άλλων φαρμάκων (για παράδειγμα του BNN27). Οι δόσεις του BNN27 βασίστηκαν σε προηγούμενες μελέτες (Pitsikas & Gravanis, 2017).

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε 6 πειραματικές ομάδες (8 επίμυες/ομάδα): φυσιολογικός ορός + φυσιολογικός ορός, φυσιολογικός ορός + BNN27 (3 mg/kg), φυσιολογικός ορός + BNN27 (6 mg/kg), φυσιολογικός ορός + κεταμίνη (10 mg/kg), κεταμίνη (10 mg/kg)+ BNN27 (3 mg/kg), κεταμίνη (10 mg/kg)+ BNN27 (6 mg/kg).

Πείραμα 2: επιδράσεις του BNN27 στα επαγόμενα λόγω κεταμίνης μνημονικά ελλείμματα στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το μνημονικό στάδιο απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας.

Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου. Η χορήγηση των ουσιών έγινε ακριβώς 1 ώρα πριν την T1 δοκιμή, με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης των ουσιών στο μνημονικό στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της πληροφορίας. Επίσης, το ενδιαμέσο διάστημα ανάμεσα στην T1 και T2 δοκιμή (ITI) ήταν 1 ώρα, καθώς σε αυτή τη συνθήκη καθυστερημένης αναγνώρισης η μνήμη είναι ακόμα ανέπαφη στους επίμυες που τους χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός (Bartolini και συν., 1996) και επίσης, ελλείμματα σχετιζόμενα με τη χορήγηση κεταμίνης (υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες, αταξία) δεν παρατηρούνται (Boultadakis & Pitsikas, 2010). Οι δόσεις του BNN27 καθορίστηκαν από προηγούμενες μελέτες (Pitsikas & Gravanis, 2017), όπως και της κεταμίνης (3 mg/kg) (Boultadakis & Pitsikas, 2010).

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε 6 πειραματικές ομάδες (8 επίμυες/ομάδα): φυσιολογικός ορός + φυσιολογικός ορός, φυσιολογικός ορός + BNN27 (3 mg/kg), φυσιολογικός ορός + BNN27 (6 mg/kg), φυσιολογικός ορός + κεταμίνη (3 mg/kg), κεταμίνη (3 mg/kg)+ BNN27 (3 mg/kg), κεταμίνη (3 mg/kg)+ BNN27 (6 mg/kg).

Πείραμα 3: επιδράσεις του BNN27 στα επαγόμενα λόγω κεταμίνης μνημονικά ελλείμματα στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το μνημονικό στάδιο της αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας.

Για τη μελέτη των επιδράσεων των ουσιών στα μετά της εκπαίδευσεως μνημονικά σημεία, δηλαδή την αποθήκευση ή/και ανάκληση, χρησιμοποιήθηκε η ίδια με την ανωτέρω δοκιμασία με μια σημαντική διαφοροποίηση: οι ουσίες χορηγήθηκαν ακριβώς αμέσως μετά το χρονικό διάστημα T1. Το ενδιάμεσο διάστημα ανάμεσα στην T1 και T2 δοκιμή (ITI) ήταν 1 ώρα, καθώς σε αυτή τη συνθήκη καθυστερημένης αναγνώρισης η μνήμη είναι ακόμα ανέπαφη στους επίμυες που τους χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός (Bartolini και συν., 1996) και επίσης, ελλείμματα σχετιζόμενα με τη χορήγηση κεταμίνης (υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες, αταξία) δεν παρατηρούνται, όπως προαναφέρθηκε (Boultadakis & Pitsikas, 2010). Οι δόσεις του BNN27 καθορίστηκαν από προηγούμενες μελέτες (Pitsikas & Gravanis, 2017), όπως και της κεταμίνης (3 mg/kg) (Boultadakis και Pitsikas, 2010).

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε 6 πειραματικές ομάδες (8 επίμυες/ομάδα): φυσιολογικός ορός + φυσιολογικός ορός, φυσιολογικός ορός + BNN27 (3 mg/kg), φυσιολογικός ορός + BNN27 (6 mg/kg), φυσιολογικός ορός + κεταμίνη (3 mg/kg), κεταμίνη (3 mg/kg)+ BNN27 (3 mg/kg), κεταμίνη (3 mg/kg)+ BNN27 (6 mg/kg).

Πείραμα 4: επιδράσεις του BNN27 στις επαγόμενες λόγω κεταμίνης αλλαγές στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

Για τη μελέτη των αρνητικών συμπτωμάτων χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Η τριών ημερών χορήγηση των ουσιών και η δόση της κεταμίνης (8 mg/kg) επιλέχθηκαν βάσει μελέτης που κατέδειξε ότι δημιουργήθηκε ανοχή στην υπερκινητικότητα και τα αταξικά φαινόμενα, αλλά όχι στις αλλαγές στην κοινωνική συμπεριφορά, που δημιουργούνται γρήγορα αμέσως μετά τη χορήγησή της (Kogos και συν., 2007).

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε πειραματικές ομάδες, 8 ζεύγη/ομάδα. Κάθε πειραματόζωο έλαβε κεταμίνη (8 mg/kg) ή φυσιολογικό ορό για 2 διαδοχικές ημέρες. Τα πειραματόζωα 30 λεπτά μετά την ένεση, αφέθηκαν να εξερευνήσουν τον πειραματικό κλωβό κινητικότητας για 10 λεπτά. Την τρίτη μέρα, κάθε πειραματόζωο έλαβε την κατάλληλη χορήγηση 30 λεπτά πριν την εξέταση: φυσιολογικός ορός + φυσιολογικός ορός, φυσιολογικός ορός + BNN27 (3 mg/kg), φυσιολογικός ορός + BNN27 (6 mg/kg), φυσιολογικός ορός + κεταμίνη (8 mg/kg), κεταμίνη (8 mg/kg)+ BNN27 (3 mg/kg), κεταμίνη (8 mg/kg)+ BNN27 (6 mg/kg).

2.6. Στατιστική Ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα.

2.6.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου

Τα αποτελέσματα αναφορικά με την κινητική δραστηριότητα στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου εκφράστηκαν ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα και αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA) δύο παραγόντων. Οι παράγοντες ήταν το BNN27 και η κεταμίνη. Όπου επιτεύχθηκε στατιστική

σημαντικότητα, ακολούθησαν εκ των υστέρων αναλύσεις με χρήση Student's t-tests για να εκτιμηθούν οι διαφορές μεταξύ των τιμών των διαφόρων πειραματικών ομάδων. Για τις στερεοτυπικές συμπεριφορές και την αταξία οι συχνότητες εκδήλωσης για κάθε μία από τις παραμέτρους αθροίστηκαν και κάθε συμπεριφορική παράμετρος αναλύθηκε κατά μέσο όρο και τυπικό σφάλμα.

2.6.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (στάδιο απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας)

Αναφορικά με την ανάλυση των αποτελεσμάτων (δείκτης D και κινητική δραστηριότητα) στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας, τα δεδομένα αξιολογήθηκαν με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) τριών παραγόντων. Οι παράγοντες ήταν η κεταμίνη, το BNN27 και οι δοκιμές (T1 και T2). Όπου επιτεύχθηκε στατιστική σημαντικότητα, ακολούθησαν εκ των υστέρων αναλύσεις με χρήση Student's t-tests για να εκτιμηθούν οι διαφορές μεταξύ των τιμών των διαφόρων πειραματικών ομάδων.

2.6.3. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (στάδιο αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας)

Τα αποτελέσματα αναφορικά με τη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το στάδιο της αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας (δείκτης D και κινητική δραστηριότητα), εκφράστηκαν ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα και αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA) δύο παραγόντων. Οι παράγοντες ήταν το BNN27 και η κεταμίνη. Όπου επιτεύχθηκε στατιστική σημαντικότητα, ακολούθησαν εκ των υστέρων αναλύσεις με χρήση

Student's t-tests για να εκτιμηθούν οι διαφορές μεταξύ των τιμών των διαφόρων πειραματικών ομάδων.

2.6.4. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης

Τα αποτελέσματα της διάρκειας της κοινωνικής αλληλεπίδρασης και της κινητικότητας στην ίδια δοκιμασία, εκφράστηκαν ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα και αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA) δύο παραγόντων. Οι παράγοντες ήταν το BNN27 και η κεταμίνη. Όπου επιτεύχθηκε στατιστική σημαντικότητα, ακολούθησαν εκ των υστέρων αναλύσεις με χρήση Student's t-tests για να εκτιμηθούν οι διαφορές μεταξύ των τιμών των διαφόρων πειραματικών ομάδων.

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου

3.1.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στην υπερκινητικότητα

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=19.208, p < 0.001$] και του BNN27 [$F(2, 42)=4.025, p = 0.025$]. Εκ των υστέρων στατιστική ανάλυση αποκάλυψε πως η ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό + κεταμίνη παρουσίασε υψηλότερα επίπεδα κινητικής δραστηριότητας σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες, συμπεριλαμβανομένων των ομάδων κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) και κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) ($p<0.05$, Σχήμα 1).

3.1.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές κυκλικές κινήσεις στο ανοικτό πεδίο

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=38.859, p < 0.001$]. Εκ των υστέρων αναλύσεις αποκάλυψαν πως η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg), καθώς και η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό (Πίνακας 1).

3.1.3. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές κινήσεις της κεφαλής

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=77.220, p < 0.001$]. Εκ των υστέρων αναλύσεις έδειξαν ότι η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) παρουσίασε χαμηλότερα επίπεδα στερεοτυπικών αιωρήσεων κεφαλής σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό ($p < 0.05$, Πίνακας 1).

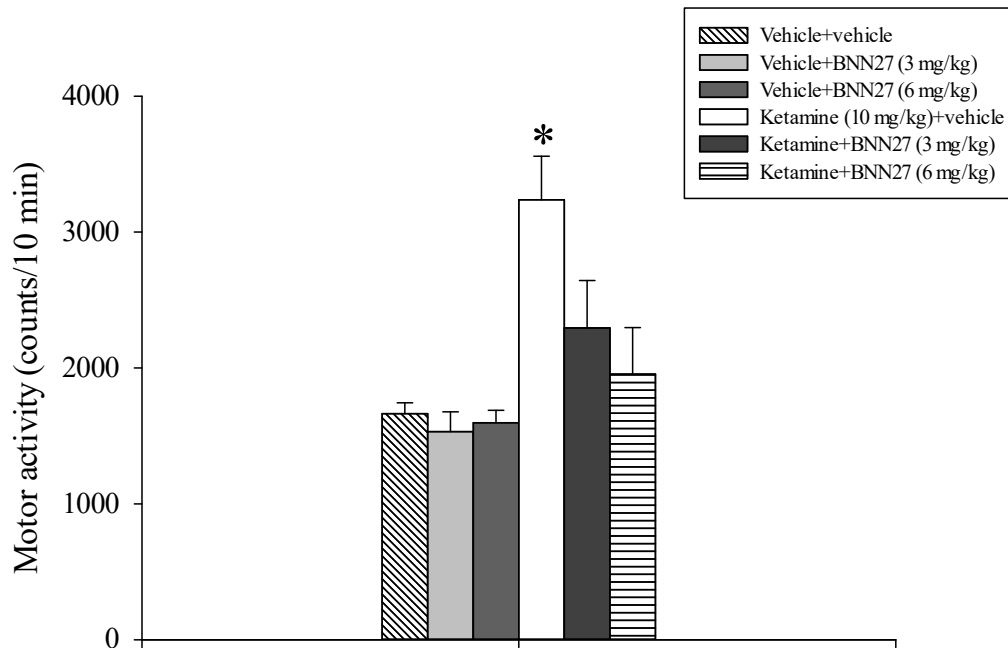
3.1.4. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στις στερεοτυπικές αιωρήσεις του κορμού

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=113.577, p < 0.001$]. Εκ των υστέρων αναλύσεις αποκάλυψαν πως η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg), καθώς και η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό (Πίνακας 1).

3.1.5. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στην αταξία

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=37.186, p < 0.001$]. Εκ των υστέρων αναλύσεις έδειξαν ότι η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) παρουσίασε χαμηλότερα επίπεδα αταξίας σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό και την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) ($p < 0.05$, Πίνακας 1).

Fig. 1



Σχήμα 1. Κινητική δραστηριότητα. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα. * $p < 0.05$ έναντι όλων των άλλων ομάδων.

Θεραπεία (η=8)	Κυκλικές κινήσεις	Αιωρήσεις κορμού	Αιωρήσεις κεφαλής	Αταξία
Φ. ορός + Φ. Ορός	0.000	0.000	0.000	0.000
Φ. ορός+BNN27 (3 mg/kg)	0.000	0.000	0.000	0.000
Φ. ορός +BNN27 (6 mg/kg)	0.000	0.000	0.000	0.000
Κεταμίνη (10 mg/kg)+ Φ. ορός	14.3±3.5*	17.8±4.3*	20.5±3.2* ⁺	38.5±7.9* ⁺
Κεταμίνη+BNN27 (3 mg/kg)	14.5±4*	14.8±2.2*	16.6±3*	32.1±9.9* ⁺
Κεταμίνη +BNN27 (6 mg/kg)	6.6±1.9*	13.6±2*	12±1.3* [‡]	12.9±5.4* [#]

Πίνακας 1. N=8 επίμυες/ομάδα. Επίδραση του BNN27 σε κινητικές διαταραχές (στερεοτυπίες και αταξία) επαγόμενες από την κεταμίνη. Τα δεδομένα εκφράζονται με μέσο όρο και τυπικό σφάλμα. * $p<0.05$ σε σχέση με τις ομάδες ελέγχου, ⁺ $p<0.05$ σε σχέση με τις ομάδες ελέγχου και την ομάδα κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg), [#] $p<0.05$ σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό και την ομάδα κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg), [‡] $p<0.05$ σε σχέση με την ομάδα που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό.

3.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το στάδιο της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας

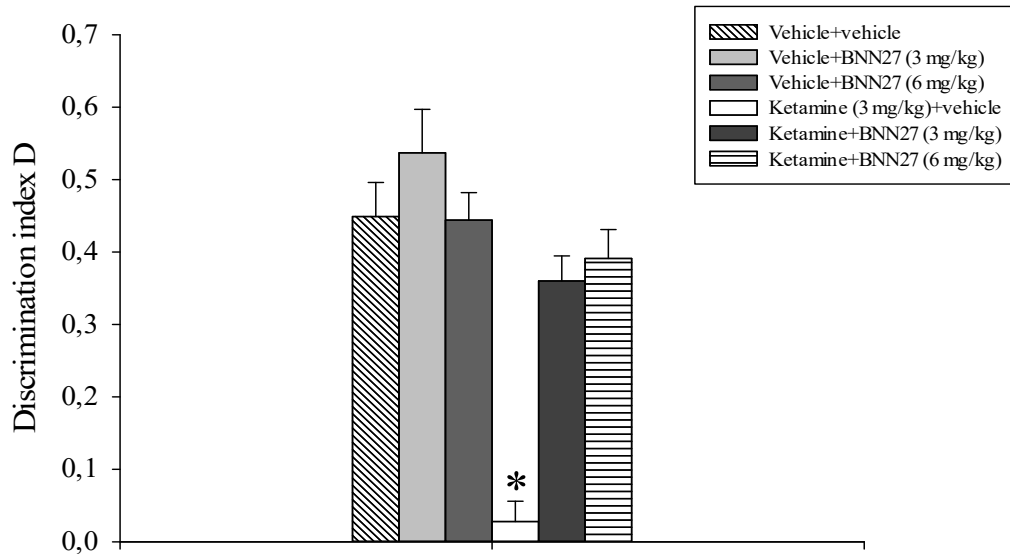
3.2.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί του δείκτη διάκρισης D κατά τη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου επί της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας

Η στατιστική ανάλυση του δείκτη διάκρισης D αποκάλυψε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=37.498, p<0.001$], του BNN27 [$F(2, 42)=13.684, p<0.001$], καθώς και μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ κεταμίνης και BNN27 [$F(2, 42)=9.292, p<0.001$]. Εκ των υστέρων στατιστική ανάλυση αποκάλυψε πως η ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό + κεταμίνη εμφάνισε

χαμηλότερη τιμή του δείκτη διάκρισης D σε σχέση με όλες τις άλλες ομάδες, συμπεριλαμβανομένων και των ομάδων που έλαβαν κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) και κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) ($p < 0.05$, Σχήμα 2A).

Fig. 2

A

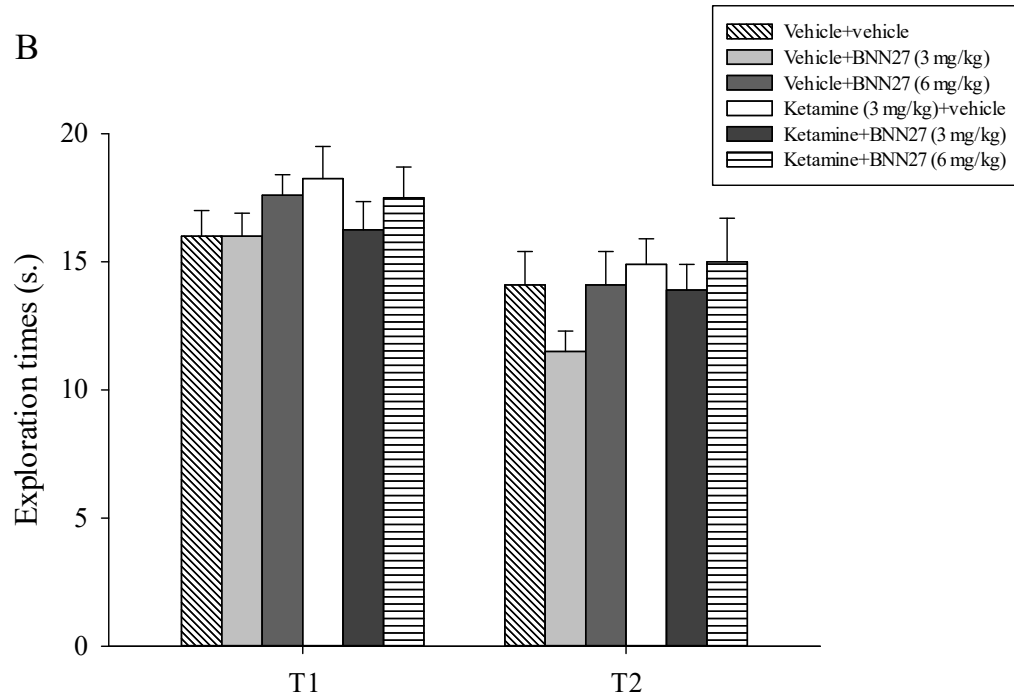


Σχήμα 2A. Δείκτης διάκρισης D. Το BNN27 και η κεταμίνη χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 60 λεπτά πριν την έναρξη της T1. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα. * $p < 0.05$ έναντι όλων των υπολοίπων ομάδων.

3.2.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στα εξερευνητικά επίπεδα επί της απόκτησης/εγγραφής της μνημονικής πληροφορίας

Η στατιστική ανάλυση των εξερευνητικών επιπέδων κατέδειξε μόνο μια σημαντική κύρια επίδραση των δοκιμών [$F(1, 42)=20.524$, $p < 0.001$]. Η συνολική ανάλυση δεν έδειξε κάποια σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στην κεταμίνη, το BNN27 και τις δοκιμές, ούτε κάποια δυαδική αλληλεπίδραση ανάμεσα σε κεταμίνη και BNN27, στην κεταμίνη και τις δοκιμές και το BNN27 και τις δοκιμές. Αυτό καταδεικνύει ότι όλες οι ομάδες έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα εξερεύνησης κατά την

T2 σε σύγκριση με αυτά της T1, αλλά αυτή η διαφορά δεν έφθασε σε επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας (Σχήμα 2B).



Σχήμα 2B. Συνολικός χρόνος εξερεύνησης κατά την T1 και T2. Το BNN27 και η κεταμίνη χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 60 λεπτά πριν την έναρξη της T1. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα.

3.3. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το στάδιο της αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας

3.3.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί του δείκτη διάκρισης D κατά τη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου επί της ανάκλησης ή/και αποθήκευσης της μνημονικής πληροφορίας

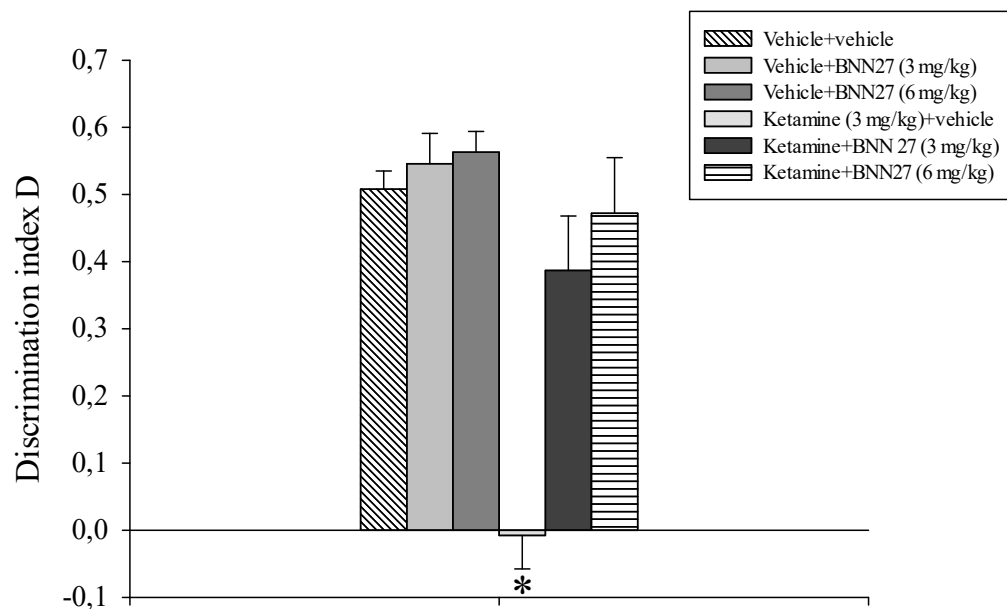
Η στατιστική ανάλυση του δείκτη διάκρισης D κατέδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=29.737, p<0.001$], του BNN27 [$F(2, 42)=12.250,$

$p < 0.001$], καθώς και μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ κεταμίνης και BNN27 [$F(2, 42) = 7.908, p = 0.001$]. Εκ των υστέρων στατιστική ανάλυση ανέδειξε πως η ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό + κεταμίνη εμφάνισε χαμηλότερη τιμή του δείκτη διάκρισης D σε σχέση με όλες τις άλλες ομάδες, συμπεριλαμβανομένων και των ομάδων που έλαβαν κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) και κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) ($p < 0.05$, Σχήμα 3A).

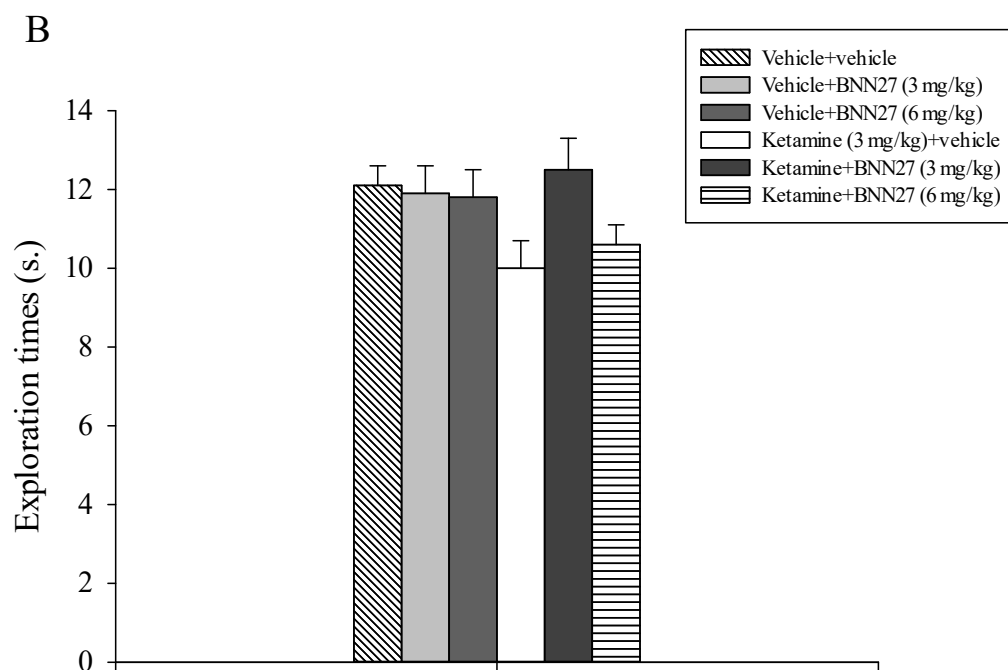
3.3.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 στα εξερευνητικά επίπεδα επί της ανάκλησης ή/και αποθήκευσης της μνημονικής πληροφορίας

Η στατιστική ανάλυση των εξερευνητικών επιπέδων δεν ανέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική επίδραση του BNN27, της κεταμίνης ή του συνδυασμού τους στο συνολικό χρόνο εξερεύνησης των αντικειμένων κατά την T2 (Σχήμα 3B).

Fig. 3
A



Σχήμα 3Α. Δείκτης διάκρισης D. Το BNN27 και η κεταμίνη χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 60 λεπτά πριν την έναρξη της T2. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα. * $p < 0.05$ έναντι όλων των υπολοίπων ομάδων.



Σχήμα 3B. Συνολικός χρόνος εξερεύνησης κατά την T2. Το BNN27 και η κεταμίνη χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 60 λεπτά πριν την έναρξη της T2. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα.

3.4. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης

3.4.1. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί της δοκιμασίας κοινωνικής αλληλεπίδρασης

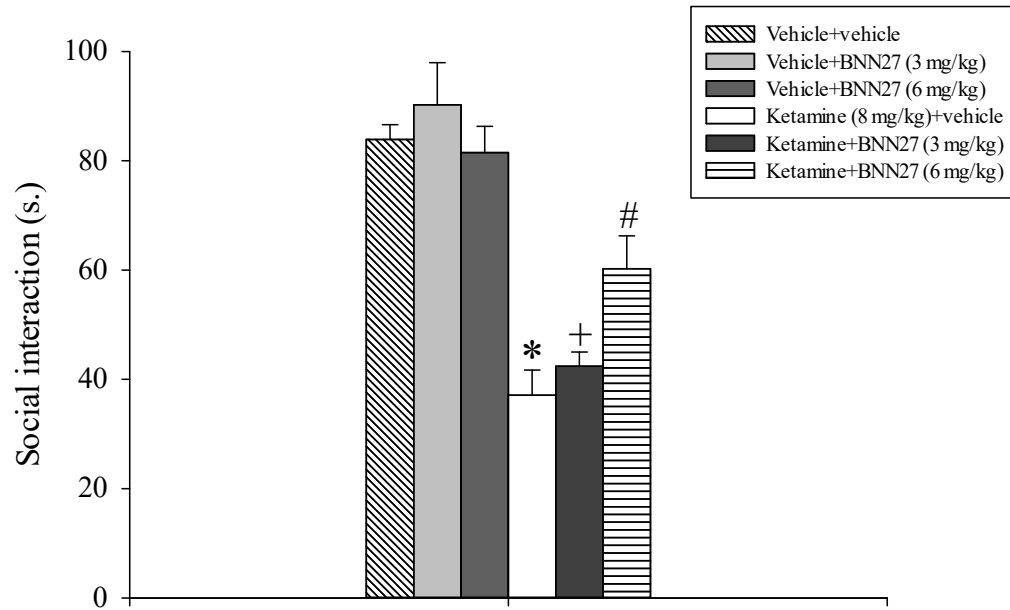
Η στατιστική ανάλυση της κοινωνικής αλληλεπίδρασης αποκάλυψε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=87.752, p < 0.001$], καθώς και μια

σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ κεταμίνης και BNN27 [$F(2, 42)=4.445, p=0.018$]. Εκ των υστέρων στατιστική ανάλυση αποκάλυψε πως η ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό + κεταμίνη, καθώς και η ομάδα που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) παρουσίασε χαμηλότερα επίπεδα κοινωνικής αλληλεπίδρασης σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες, συμπεριλαμβανομένης και εκείνης που έλαβε κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) ($p<0.05$, Σχήμα 4A).

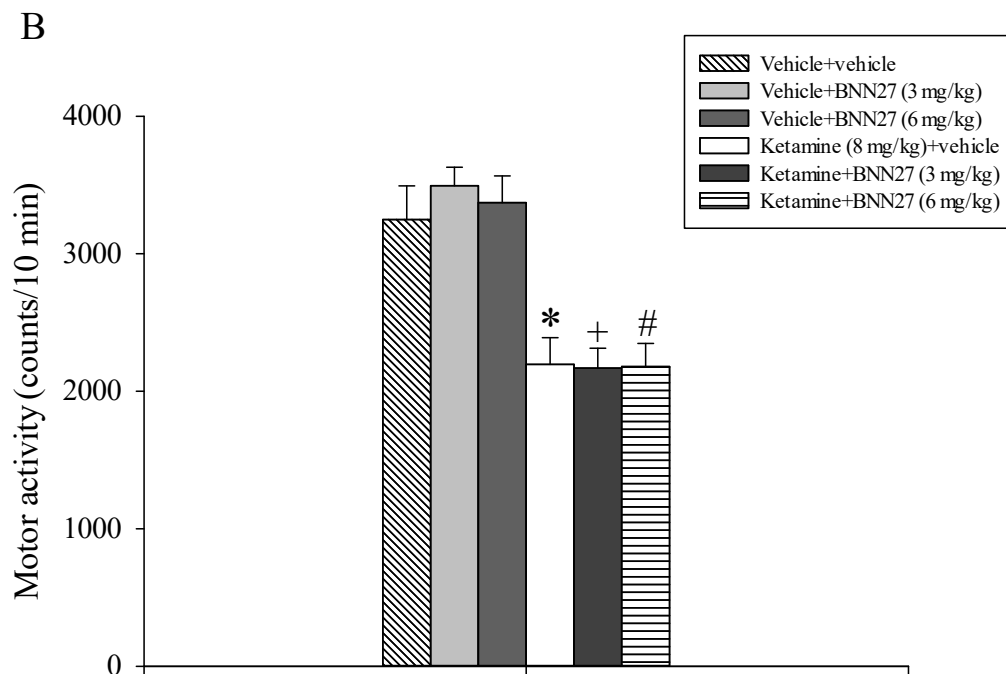
3.4.2. Επίδραση της κεταμίνης και του BNN27 επί της κινητικής δραστηριότητας των επίμυων κατά τη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης

Η στατιστική ανάλυση της κινητικότητας έδειξε μια σημαντική κύρια επίδραση της κεταμίνης [$F(1, 42)=22.5, p<0.001$], του BNN27 [$F(2, 42)=7.195, p=0.002$], καθώς και μια σημαντική αλληλεπίδραση κεταμίνης και BNN27 [$F(2, 42)=10.416, p<0.001$]. Εκ των υστέρων στατιστική ανάλυση αποκάλυψε πως η ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό + κεταμίνη, καθώς και οι ομάδες που έλαβαν κεταμίνη + BNN27 (3 mg/kg) και κεταμίνη + BNN27 (6 mg/kg) παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα κινητικότητας σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες ελέγχου ($p<0.05$, Σχήμα 4B).

Fig. 4
A



Σχήμα 4Α. Κοινωνική αλληλεπίδραση. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα. * $p < 0.05$ έναντι όλων των υπολοίπων ομάδων εκτός της ομάδας που έλαβε κεταμίνη+BNN27 (3 mg/kg), + $p < 0.05$ έναντι όλων των υπολοίπων ομάδων, εκτός της ομάδας που έλαβε κεταμίνη + φυσιολογικό ορό, # $p < 0.05$ έναντι όλων των ομάδων.



Σχήμα 4B. Κινητική δραστηριότητα κατά τη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα. *, +, # $p < 0.05$ έναντι των ομάδων ελέγχου.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Συνολικά, τα ανωτέρω αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι το BNN27 μείωσε τα συμπεριφορικά ελλείμματα σχιζοφρένειας που προέκυψαν από τη χορήγηση του μη συναγωνιστικού ανταγωνιστή του NMDA υποδοχέα, κεταμίνη, σε επίμυες. Παράλληλα, αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν μια λειτουργική αλληλεπίδραση ανάμεσα στο BNN27 και στο γλουταμινεργικό σύστημα.

4.1. Δοκιμασία ανοικτού πεδίου

Στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση κεταμίνης (10 mg/kg) στα πειραματόζωα προκάλεσε όπως ήταν αναμενόμενο υπερκινητικότητα, στερεοτυπικές κινήσεις και αταξία, γεγονός που συνάδει με τα ευρήματα προγενέστερων μελετών (Moghaddam και συν, 1997· Razoux και συν., 2007). Η

χορήγηση BNN27 (3 mg/kg) ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από την κεταμίνη υπερκινητικότητα. Επιπλέον, η χορήγηση BNN27 στη δόση των 6 mg/kg μείωσε και αυτή την υπερκινητικότητα, αλλά και τις στερεοτυπικές αιωρήσεις της κεφαλής και ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από κεταμίνη αταξία. Το BNN27 σε καμία δόση δεν μπόρεσε να ανταγωνιστεί τις στερεοτυπικές κυκλικές κινήσεις και αιωρήσεις του κορμού.

Το BNN27 (3 και 6 mg/kg) μόνο του δεν επηρέασε καμία από τις παραπάνω συμπεριφορές, ούτε την κινητικότητα, γεγονός που δείχνει ότι οι παρατηρηθείσες επιδράσεις του BNN27 δεν οφείλονται σε αισθητικοκινητικές επιπτώσεις και ελλείμματα στους επίμυες.

4.2. Δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου

Όπως έχει διαπιστωθεί και σε προηγούμενες μελέτες, η χορήγηση χαμηλών δόσεων κεταμίνης μετά από εκπαίδευση στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου οδηγεί σε ελλειμματική αναγνωριστική μνήμη στα πειραματόζωα (Boultadakis & Pitsikas, 2010· Pitsikas & Gravanis, 2017). Η παρούσα μελέτη σε συμφωνία με προηγούμενα δεδομένα απέδειξε ότι η χορήγηση BNN27 (3 και 6 mg/kg) ανταγωνίζεται τη μνημονική έκπτωση που επάγεται από την κεταμίνη και στα δύο πειραματικά μοτίβα της δοκιμασίας αναγνώρισης νέου αντικειμένου (απόκτησης/εγγραφής και αποθήκευσης ή/και ανάκλησης της μνημονικής πληροφορίας) (Pitsikas & Gravanis, 2017).

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι και στα δύο πειραματικά πρότυπα της συγκεκριμένης δοκιμασίας η χορήγηση κεταμίνης δεν επηρέασε την εξερευνητική ικανότητα των επίμυων. Επομένως, οι όποιες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των ομάδων στις μνημονικές ικανότητες οφείλονται μόνο στην επίδραση των φαρμάκων

στους μνημονικούς μηχανισμούς αυτούς καθαυτούς και δεν οφείλονται σε έμμεσες επιδράσεις αλλαγών στην κινητικότητα ή στο εξερευνητικό κίνητρο (γενικότερα στις αισθητικοκινητικές ικανότητες/δεξιότητες) των επίμυων.

Αυτό που διαφάνηκε επίσης –χωρίς, ωστόσο, στατιστική σημαντικότητα- στη δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για το στάδιο της απόκτησης της μνημονικής πληροφορίας, ήταν ότι όλες οι ομάδες είχαν χαμηλότερα επίπεδα εξερεύνησης κατά την T2 σε σύγκριση με την επίδοσή τους κατά την T1, ενδεχομένως λόγω της πρώτης επαφής με τη διαδικασία. Ακόμη, στη δοκιμασία για την εξέταση της αποθήκευσης της μνημονικής πληροφορίας, το γεγονός ότι δεν υπήρξε διαφοροποίηση επί του συνολικού χρόνου εξερεύνησης ανάμεσα τις ομάδες, ενισχύει ξανά το γεγονός ότι οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των ομάδων στις διαδικασίες της μνήμης δεν οφείλονται στην επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής στην κινητικότητα ή στο εξερευνητικό κίνητρο των επίμυων.

Επίσης, θα πρέπει να γίνει αναφορά και στο πλεονέκτημα της δοκιμασίας αναγνώρισης νέου αντικειμένου ως συμπεριφορικής δοκιμασίας, διότι αξιολογεί την αναγνωριστική μνήμη σε τρωκτικά βασιζόμενη αποκλειστικά στη φυσική περιέργειά τους και στην προτίμηση που επιδεικνύουν για νέα και άγνωστα αντικείμενα (Dere, Huston, & De Souza Silva, 2007). Δεν είναι παρεμβατική διαδικασία και δεν χρησιμοποιεί μεθόδους τιμωρίας και ανταμοιβής.

Είναι γνωστό πως η αναγνωριστική μνήμη διαταράσσεται τόσο σε πάσχοντες από σχιζοφρένεια (Calev και συν., 1983· Edwards και συν., 2002), όσο και σε υγιείς εθελοντές που λαμβάνουν κεταμίνη (Morgan και συν., 2003). Ως εκ τούτου, η συγκεκριμένη συνθήκη προσομοιάζει σε διαγνωστικές δοκιμασίες που εφαρμόζονται σε ανθρώπους και η αξιοπιστία της θεωρείται υψηλή.

4.3. Δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας κοινωνικής αλληλεπίδρασης σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες κατέδειξαν ότι η υποχρόνια χορήγηση κεταμίνης (8 mg/kg X 3 μέρες) προκάλεσε κοινωνική απόσυρση και ελάττωση της κινητικής δραστηριότητας των επίμυων, σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες (Koros και συν., 2007). Η χορήγηση BNN27 (6 mg/kg) επανάφερε τα επίπεδα κοινωνικής αλληλεπίδρασης των πειραματόζωων στα φυσιολογικά επίπεδα, χωρίς όμως να αναστέλλει την υποκινητικότητα που προκάλεσε η κεταμίνη.

Εφόσον τα επίπεδα της κινητικής δραστηριότητας δε διέφεραν μεταξύ της ομάδας που έλαβε μόνο κεταμίνη και των ομάδων που έλαβαν κεταμίνη και BNN27, ούτε επηρεάστηκε η προκαλούμενη από την κεταμίνη υποκινητικότητα, είναι εξαιρετικά δύσκολο η δράση του BNN27 επί της κοινωνικής αλληλεπίδρασης να οφείλεται σε επίδρασή του επί της κινητικότητας των πειραματόζωων και σε αυξημένα επίπεδα γενικότερης δραστηριότητας των επίμυων.

Η υποκινητικότητα που παρουσιάστηκε στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης από τη χορήγηση κεταμίνης, μοιάζει να έρχεται σε αντίθεση με τα πρώτα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, καθώς στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου η κεταμίνη είχε οδηγήσει σε υπερκινητικότητα, στερεοτυπίες και αταξία. Επίσης, το BNN27 δεν ήταν ικανό σε καμία δόση να ανταγωνιστεί αυτήν την υποκινητικότητα της κεταμίνης στη δοκιμασία της κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

Αυτές οι παρατηρήσεις και διαφοροποιήσεις μπορούν αποδοθούν σε διάφορες αιτίες. Οι διαφορετικοί πειραματικοί χειρισμοί θα μπορούσαν να εξηγήσουν αυτές τις αλλαγές, όπως για παράδειγμα οι δόσεις της κεταμίνης, το πρόγραμμα χορήγησης των ουσιών (στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης υπήρξε πρωτόκολλο

υποχρόνιας χορήγησης για τρεις ημέρες, ενώ στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου οξεία χορήγηση), ο φαρμακολογικός σχεδιασμός, η διαφορετική συμπεριφορική δοκιμασία και αξιολόγηση καθώς και η παρουσία του αγνώστου στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Από την άλλη, η οξεία χορήγηση των 8 mg/kg κεταμίνης, η δόση που προκαλεί κοινωνικά ελλείμματα και υποκινητικότητα στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης, επάγει υπερκινητικότητα όταν εξετάζεται στα πλαίσια της κινητικής δραστηριότητας στη δοκιμασία ανοικτού πεδίου (Koros και συν., 2007).

Τα τρέχοντα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η κεταμίνη μπορεί να επάγει αλλαγές στη συμπεριφορά των επίμυων που αντανακλούν κοινωνικά ελλείμματα της σχιζοφρένειας. Συν τοις άλλοις, είναι γνωστό ότι οι NMDA ανταγωνιστές επάγουν αρνητικά συμπτώματα σχιζοφρένειας σε κλινικές παρατηρήσεις. Συνεπώς, η κοινωνική απομόνωση των επίμυων θα μπορούσε να είναι σημαντικής μεταφραστικής αξίας για τα αρνητικά συμπτώματα της νόσου (Koros και συν., 2007).

Επιπρόσθετα, η κοινωνική απόσυρση που προκάλεσε η κεταμίνη δεν θα μπορούσε να αποδοθεί σε αγχογόνο επίδραση αυτής, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι στη δόση που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης δεν είναι αγχογόνος (Trenlorouli και συν., 2015).

Ο μηχανισμός με τον οποίο η κεταμίνη παράγει ψυχομιμητικές επιδράσεις έχει εν μέρει αποδοθεί, όπως έχει προαναφερθεί, στην αναστολή των NMDA υποδοχέων που βρίσκονται στους ενδονευρώνες GABA, που εν συνεχεία οδηγεί σε αποαναστολή της νευρωνικής δραστηριότητας στις μεταιχμιακές περιοχές (Moghaddam και συν., 1997). Αυτές οι αποανασταλτικές δράσεις αυξάνουν τη νευρωνική δραστηριότητα και προκαλούν αυξημένη γλουταμινεργική και ντοπαμινεργική απελευθέρωση στον

προμετωπιαίο φλοιό και στις μεταιχμιακές περιοχές (Moghaddam και συν., 1997· Razoux και συν., 2007).

Οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων το BNN27 επιδρά στις επαγόμενες από την χορήγηση κεταμίνης ψυχομιμητικές συμπεριφορικές εκδηλώσεις δεν είναι γνωστοί. Περαιτέρω έρευνες πρέπει να διεξαχθούν για να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του BNN27 στη νόσο και σημαντική βοήθεια προς αυτήν την κατεύθυνση είναι οι δράσεις και ο ρόλος της DHEA και DHEAS στη σχιζοφρένεια, μιας και το BNN27 είναι ανάλογο της DHEA.

4.4. BNN27 και γλουταμικό οξύ

Είναι τεκμηριωμένο ότι η δυσλειτουργία του γλουταμικού οξέος σχετίζεται με τη σχιζοφρένεια και ότι η DHEA επιδρά στη διαβίβαση των υποδοχέων NMDA, ενισχύοντάς την (Bergeron και συν., 1996). Συνεπώς, θεωρητικά θα μπορούσε να έχει ωφέλιμη δράση στα συμπτώματα της νόσου, το ίδιο και κατ' επέκταση το BNN27.

Ως εκ τούτου, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι οι ευεργετικές επιδράσεις του BNN27 που εμφανίστηκαν στο πειραματικό πρότυπο της σχιζοφρένειας επαγόμενης από χορήγηση κεταμίνης, σχετίζονται με δυσλειτουργία του γλουταμινεργικού συστήματος. Τα παρόντα αποτελέσματα συμφωνούν και με προηγούμενα ευρήματα όπου διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση DHEAS μείωσε σημαντικά την προκαλούμενη από τον ανταγωνιστή του NMDA υποδοχέα φαινκυκλιδίνη γνωστική έκπτωση σε ποντίκια (Hashimoto και συν., 2006). Επίσης, όπως γίνεται αντιληπτό και από τις προηγηθείσες αναφορές, σημαντικό ρόλο στη επίδραση της DHEA στους NMDA υποδοχείς, παίζουν οι σ υποδοχείς αλλά και ενδεχομένως το NO. Επομένως, σημαντικό πεδίο έρευνας θα μπορούσαν να αποτελέσουν και αυτοί οι δύο παράγοντες

στη διερεύνηση της επίδρασης του BNN27 στη σχιζοφρένεια επί της γλουταμινεργικής διαβίβασης.

4.4.1. DHEA, σ υποδοχείς και σχιζοφρένεια

Τα νευροστεροειδή εκτός από την ρύθμιση των GABAA, NMDA και χολινεργικών υποδοχέων, αλληλεπιδρούν με έναν άτυπο ενδοκυττάριο υποδοχέα, την σ1 πρωτεΐνη. Αυτός ο υποδοχέας έχει κλωνοποιηθεί σε διάφορα είδη και αρκετοί επιλεκτικοί προσδέτες του έχουν συντεθεί. Σε κυτταρικό επίπεδο οι σ1 αγωνιστές ρυθμίζουν την ενδοκυττάρια κινητοποίηση του ασβεστίου καθώς και την εξωκυττάρια ροή του, διαμεσολαβούν NMDA αποκρίσεις, την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης και την αλλαγή των μονοαμινεργικών συστημάτων. Σε συμπεριφορικό επίπεδο, οι σ1 υποδοχείς εμπλέκονται σε διαδικασίες μάθησης και μνήμης, σε απόκριση στο στρες, στην κατάθλιψη και στη νευροπροστασία (Maurice και συν., 2001).

Η DHEA, λοιπόν, φαίνεται να δρα σαν ένας σ1 αγωνιστής (Cheng και συν., 2008· Maurice και συν., 2006). Έχει αποδειχθεί ότι μνημονικά ελλείμματα που προκλήθηκαν από τον ανταγωνιστή των NMDA υποδοχέων, MK801, μειώθηκαν κατόπιν χορήγησης DHEA μέσω αλληλεπίδρασης με τους σ1 υποδοχείς. Σε συμφωνία με τα παραπάνω ευρήματα οι Hashimoto και συν. (2006) παρατήρησαν ότι η χορήγηση DHEAS μείωσε σημαντικά την προκαλούμενη από την φαινκυκλιδίνη γνωστική έκπτωση σε ποντίκια. Τα θετικά αποτελέσματά της ανταγωνίστηκε η συγχορήγηση του ανταγωνιστή του σ1 υποδοχέα (NE-100), αποδεικνύοντας την εμπλοκή των σ1 υποδοχέων στο μηχανισμό δράσης της DHEAS. Συνολικά, η συγκεκριμένη μελέτη επιβεβαιώνει το ρόλο των νευροστεροειδών ως θετικών ρυθμιστών της διαμεσολαβούμενης από NMDA γλουταμινεργικής διαβίβασης στο

κεντρικό νευρικό σύστημα και δείχνει τις ενισχυτικές μνημονικές ιδιότητες που διαθέτουν τα νευροστεροειδή (Maurice και συν., 1997).

4.4.2. DHEA, NO και σχιζοφρένεια

Επιπρόσθετα, εκτός όλων των ανωτέρω αξίζει αναφοράς και ο πιθανός ρόλος του μονοξειδίου του αζώτου-NO στην επίδραση της DHEA στην παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας. Το NO είναι ένας ρυθμιστής των νευροδιαβιβαστικών συστημάτων (Trabace & Kendrick, 2000· West & Grace, 2000) και ένας σημαντικός παράγοντας για τη γνωστική λειτουργία (García-Arenas και συν., 2004· Prast & Philippu, 2001) που διαταράσσεται στη σχιζοφρένεια (Bachneff, 1996· Honey & Fletcher, 2006).

Η DHEA προσδέεται με υψηλή συγγένεια σε G πρωτεΐνες σε ενδοθηλιακά κύτταρα και ενεργοποιεί τη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (Nitric Oxide Synthase-NOS). Ο αναστολέας της NOS, L-NAME, μειώνει την αντιαμνησιακή επίδραση της DHEAS έναντι της επαγόμενης λόγω γήρατος αλλά και λόγω MK801 μαθησιακής έκπτωσης (Reddy & Kulkarni, 1998a), προτείνοντας ότι η DHEAS λόγω της δράσης της επί της απελευθέρωσης ασβεστίου από τον NMDA υποδοχέα πιθανόν να ενεργοποιεί μονοπάτια του NO που θα συνεισφέρουν στη μάθηση και τη μνήμη.

4.5. BNN27 και οξειδωτικό στρες

Μία εναλλακτική υπόθεση που πιθανώς θα μπορούσε να εξηγήσει τα παρόντα αποτελέσματα βασίζεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της DHEA και κατ' επέκταση του BNN27. Υπάρχουν ενδείξεις στη βιβλιογραφία ότι το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται σε ένα ευρύ φάσμα ψυχιατρικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης και της σχιζοφρένειας (Bitanhirwe & Woo, 2011· Reddy & Yao, 1997).

Η DHEA έχει διαπιστωθεί ότι διαθέτει νευροπροστατευτικές ιδιότητες ενάντια στην απόπτωση και την οξειδωτική καταστροφή (Ritsner, 2010), το οποίο

ενδεχομένως να παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό της παθοφυσιολογίας της σχιζοφρένειας (Jarskog, 2006· Yao και συν., 2001).

Σε αυτό το πλαίσιο είναι τεκμηριωμένο ότι υποαναισθητικές δόσεις κεταμίνης αυξάνουν το οξειδωτικό στρες σε εγκεφάλους επίμυων (De Oliveira και συν., 2009). Επίσης, έχει καταδειχθεί ότι η χορήγηση κεταμίνης αλλάζει το αντιοξειδωτικό προφίλ του εγκεφάλου, μειώνοντας τη γλουταθειόνη και αυξάνοντας τα εγκεφαλικά επίπεδα της NOx και της μαλονδιαλδεϋδης (Vasconcelos και συν., 2015· Da Silva Araújo και συν., 2017). Συνεπώς, συνολικά, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι οι ωφέλιμες δράσεις του BNN27 στα επαγόμενα από την κεταμίνη συμπεριφορικά ελλείμματα διαμεσολαμβάνονται από τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες.

4.5. Περιορισμοί έρευνας και μελλοντικές προοπτικές

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση του BNN27 σε πειραματικό πρότυπο σχιζοφρένειας, χρησιμοποιώντας μεθόδους συμπεριφορικής φαρμακολογίας σε επίμυες. Για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του BNN27 χρησιμοποιήθηκαν τρεις χωριστές πειραματικές δοκιμασίες: για τα θετικά συμπτώματα η δοκιμασία ανοικτού πεδίου, για τα γνωστικά ελλείμματα η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου και για τα αρνητικά συμπτώματα η δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης.

Συνολικά, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι το BNN27 ελαχιστοποίησε τα συμπεριφορικά ελλείμματα που σχετίζονται με την υπολειτουργία του NMDA υποδοχέα, λόγω χορήγησης κεταμίνης, και για αυτό το λόγο προκύπτει και μια λειτουργική αλληλεπίδραση ανάμεσα στο BNN27 και το γλουταμινεργικό σύστημα. Ωστόσο, πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες ώστε να αποσαφηνιστεί αν το

BNN27 θα μπορούσε να είναι υποψήφιο για να εισαχθεί στη θεραπευτική φαρέτρα της νόσου της σχιζοφρένειας.

Μελλοντικές ερευνητικές προοπτικές αναδύονται από τους περιορισμούς της συγκεκριμένης έρευνας. Ειδικότερα στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης ανήκει η εξέταση μόνο της φαρμακολογικής συμπεριφορικής επίπτωσης του BNN27 στη σχιζοφρένεια. Για να είναι ολοκληρωμένα τα ανωτέρω αποτελέσματα οφείλουν να διεξαχθούν νευροχημικές, ιστολογικές και όχι μόνο μελέτες, ώστε να διερευνηθεί ο τρόπος επίδρασης του BNN27 στο πειραματικό πρότυπο πρόκλησης σχιζοφρένειας μέσω κεταμίνης. Επίσης, θα μπορούσαν να διεξαχθούν και διαφορετικές συμπεριφορικές έρευνες για να ισχυροποιηθούν τα τρέχοντα ευρήματα από μια ποικιλία συμπεριφορικών δοκιμασιών.

Ακόμα, στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκε η επίδραση οξείας χορήγηση δύο δόσεων του BNN27, (3 και 6 mg/kg), για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων που προκύπτουν από την χορήγηση της κεταμίνης. Μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να αξιολογήσουν διαφορετικά δοσολογικά σχήματα και επιπλέον θα μπορούσε να εξετασθεί η χρόνια χορήγηση BNN27, ώστε να αξιολογηθεί η πιθανή μεταφραστική του αξία. Ακόμα, θα μπορούσε να μελετηθεί η ανταπόκριση του BNN27 σε ελλείμματα σχιζοφρένειας που προκαλούνται από διαφορετικές ουσίες και διαφορετικά πειραματικά πρωτόκολλα, πέραν της κεταμίνης. Για παράδειγμα, σημαντικές πληροφορίες θα έδινε η διερεύνηση της επίδρασης του BNN27 σε πειραματικό πρότυπο σχιζοφρένειας που οφείλεται σε δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος ή σε νευροαναπτυξιακό πειραματικό πρότυπο πρόκλησης της νόσου.

Το BNN27, ένα μόριο με χαμηλή τοξικότητα και νευροπροστατευτικό προφίλ, είναι ένα πολλά υποσχόμενο ερευνητικό εργαλείο στον τομέα των νευροεπισημών. Προσεκτικά σχεδιασμένες μελέτες στο μέλλον θα μπορούσαν να προσφέρουν ακόμα περισσότερες πληροφορίες για τη δράση, το ρόλο, την ασφάλεια και τις εφαρμογές του BNN27 και γιατί όχι να ενισχύσουν τις ως τώρα αρκετά ελπιδοφόρες πειραματικές εφαρμογές του.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agid, O., Mamo, D., Ginovart, N., Vitcu, I., Wilson, A. A., Zipursky, R. B., & Kapur, S. (2007). Striatal Vs Extrastriatal Dopamine D2 Receptors in Antipsychotic Response—A Double-Blind PET Study in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 32(6), 1209-1215.
- Albayrak, Y., Beyazyuz, M., Beyazyüz, E., Unsal, C., & Göka, E. (2014). Increased serum dehydroepiandrosterone sulfate in the first episode but not in subsequent episodes in male patients with schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 10, 687-693.
- Aldred, S., & Waring, R. H. (1999). Localisation of dehydroepiandrosterone sulphotransferase in adult rat brain. *Brain Research Bulletin*, 48(3), 291-296.
- Archer, T. (2010). Neurodegeneration in schizophrenia. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 10(7), 1131-1141.
- Arvindakshan, M., Sitasawad, S., Debsikdar, V., Ghate, M., Evans, D., Horrobin, D. F., ... Mahadik, S. P. (2003). Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biological Psychiatry*, 53(1), 56-64.
- Babinkostova, Z., Stefanovski, B., Janicevic-Ivanovska, D., & Samardziska, V. (2015). Association between Serum Cortisol and DHEA-S Levels and Response to Antipsychotic Treatment in Schizophrenia. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 3, 124-128.
- Bachneff, S. A. (1996). Regional Cerebral Blood Flow in Schizophrenia and the Local Circuit Neurons Hypothesis. *Schizophrenia Bulletin*, 22(1), 163-182.

- Bartolini, L., Casamenti, F., & Pepeu, G. (1996). Aniracetam restores object recognition impaired by age, scopolamine, and nucleus basalis lesions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *53*(2), 277-283.
- Baulieu, E., & Robel, P. (1990). Neurosteroids: A new brain function? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *37*(3), 395-403.
- Baulieu, E., & Robel, P. (1998). Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(8), 4089-4091.
- Becker, A., & Grecksch, G. (2004). Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. Test of predictive validity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *28*(8), 1267-1277.
- Bennett, J. P., O'Brien, L. C., & Brohawn, D. G. (2016). Pharmacological properties of microneurotrophin drugs developed for treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Biochemical Pharmacology*, *117*, 68-77.
- Bergeron, R., De Montigny, C., & Debonnel, G. (1996). Potentiation of neuronal NMDA response induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone: effects mediated via sigma receptors. *The Journal of Neuroscience*, *16*(3), 1193-1202.
- Bicikova, M., Hampl, R., Hill, M., Ripova, D., Mohr, P., & Putz, Z. (2011). Neuro- and immunomodulatory steroids and other biochemical markers in drug-naive schizophrenia patients and the effect of treatment with atypical antipsychotics. *Neuro Endocrinol Lett*, *32*, 141-147.
- Bitanhirwe, B. K., & Woo, T. W. (2011). Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *35*(3), 878-893.

- Bologa, L., Sharma, J., & Roberts, E. (1987). Dehydroepiandrosterone and its sulfated derivative reduce neuronal death and enhance astrocytic differentiation in brain cell cultures. *Journal of Neuroscience Research*, 17(3), 225-234.
- Boultadakis, A., & Pitsikas, N. (2010). Effects of the Nitric Oxide Synthase Inhibitor L-NAME on Recognition and Spatial Memory Deficits Produced by Different NMDA Receptor Antagonists in the Rat. *Neuropsychopharmacology*, 35(12), 2357-2366.
- Brown, A. (2006). Prenatal Infection as a Risk Factor for Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 32(2), 200-202.
- Buchanan, R. W., Javitt, D. C., Marder, S. R., Schooler, N. R., Gold, J. M., McMahon, R. P., ... Carpenter, W. T. (2007). The Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST): The Efficacy of Glutamatergic Agents for Negative Symptoms and Cognitive Impairments. *American Journal of Psychiatry*, 164(10), 1593-1602.
- Calev, A., Venables, P. H., & Monk, A. F. (1983). Evidence for Distinct Verbal Memory Pathologies in Severely and Mildly Disturbed Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin*, 9(2), 247-264.
- Calogeropoulou, T., Avlonitis, N., Minas, V., Alexi, X., Pantzou, A., Charalampopoulos, I., ... Gravanis, A. (2009). Novel Dehydroepiandrosterone Derivatives with Antiapoptotic, Neuroprotective Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(21), 6569-6587.
- Cardno, A. & Gottesman, I. (2000). Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *American Journal of Medical Genetics*, 97(1), 12-17.
- Carlsson, A. (1988). The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1(3), 179-186.

- Carlsson, A., & Lindqvist, M. (1963). Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-Methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 20, 140-144.
- Cavoy, A., & Delacour, J. (1993). Spatial but not object recognition is impaired by aging in rats. *Physiology & Behavior*, 53(3), 527-530.
- Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(4), 299-309.
- Charalampopoulos, I., Alexaki, V., Lazaridis, I., Dermitzaki, E., Avlonitis, N., Tsatsanis, C., ... Gravanis, A. (2006). G protein-associated, specific membrane binding sites mediate the neuroprotective effect of dehydroepiandrosterone. *The FASEB Journal*, 20(3), 577-579.
- Charalampopoulos, I., Remboutsika, E., Margioris, A. N., & Gravanis, A. (2008). Neurosteroids as modulators of neurogenesis and neuronal survival. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 19(8), 300-307.
- Charalampopoulos, I., Tsatsanis, C., Dermitzaki, E., Alexaki, V., Castanas, E., Margioris, A. N., & Gravanis, A. (2004). Dehydroepiandrosterone and allopregnanolone protect sympathoadrenal medulla cells against apoptosis via antiapoptotic Bcl-2 proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(21), 8209-8214.
- Chen, F., Knecht, K., Birzin, E., Fisher, J., Wilkinson, H., Mojena, M., ... Reszka, A. A. (2005). Direct Agonist/Antagonist Functions of Dehydroepiandrosterone. *Endocrinology*, 146(11), 4568-4576.
- Cheng, Z., Lan, D., Wu, P., Zhu, Y., Dong, Y., Ma, L., & Zheng, P. (2008). Neurosteroid dehydroepiandrosterone sulphate inhibits persistent sodium currents in rat medial

prefrontal cortex via activation of sigma-1 receptors. *Experimental Neurology*, 210(1), 128-136.

Compagnone, N. A., & Mellon, S. H. (2000). Neurosteroids: Biosynthesis and Function of These Novel Neuromodulators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21(1), 1-56.

Corpechot, C., Robel, P., Axelson, M., Sjøvall, J., & Baulieu, E. E. (1981). Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(8), 4704-4707.

Corpechot, C., Synguelakis, M., Talha, S., Axelson, M., Sjøvall, J., Vihko, R., ... Robel, P. (1983). Pregnenolone and its sulfate ester in the rat brain. *Brain Research*, 270(1), 119-125.

Craddock, N., O'Donovan, M. & Owen, M. (2005). Genes for Schizophrenia and Bipolar Disorder? Implications for Psychiatric Nosology. *Schizophrenia Bulletin*, 32(1), 9-16.

Da Silva Araújo, T., Maia Chaves Filho, A. J., Monte, A. S., Isabelle de Góis Queiroz, A., Cordeiro, R. C., De Jesus Souza Machado, M., ... Macêdo, D. (2017). Reversal of schizophrenia-like symptoms and immune alterations in mice by immunomodulatory drugs. *Journal of Psychiatric Research*, 84, 49-58.

De Oliveira, L., Dos S. Spiazzi, C. M., Bortolin, T., Canever, L., Petronilho, F., Gonçalves Mina, F., ... Zugno, A. I. (2009). Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(6), 1003-1008.

Denenberg, V. H. (1969). Open-field behavior in the rat: What does it mean? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 159(3 Experimental), 852-859.

- Dere, E., Huston, J. P., & De Souza Silva, M. A. (2007). The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *31*(5), 673-704.
- Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. (2013). Washington, DC: American Psychiatric Publishing.
- Dietrich-Muszalska, A., & Olas, B. (2009). Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia. *Platelets*, *20*(2), 90-96.
- Dietrich-Muszalska, A., Olas, B., Głowacki, R., & Bald, E. (2009). Oxidative/Nitrative Modifications of Plasma Proteins and Thiols from Patients with Schizophrenia. *Neuropsychobiology*, *59*(1), 1-7.
- Edwards, J., Jackson, H. J., & Pattison, P. E. (2002). Emotion recognition via facial expression and affective prosody in schizophrenia. *Clinical Psychology Review*, *22*(6), 789-832.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, *31*(1), 47-59.
- Fan, J., Zhang, C., Gu, N., Li, X., Sun, W., Wang, H., ... He, L. (2005). Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: A large-scale association study plus meta-analysis. *Biological Psychiatry*, *57*(2), 139-144.
- Farber, N. B. (2003). The NMDA Receptor Hypofunction Model of Psychosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1003*(1), 119-130.
- Frau, R., Abbiati, F., Bini, V., Casti, A., Caruso, D., Devoto, P., & Bortolato, M. (2015). Targeting neurosteroid synthesis as a therapy for schizophrenia-related alterations induced by early psychosocial stress. *Schizophrenia Research*, *168*(3), 640-648.

- Gallagher, P., Watson, S., Smith, M., Young, A., & Ferrier, I. (2007). Plasma cortisol-dehydroepiandrosterone (DHEA) ratios in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophrenia Research*, *90*(1-3), 258-265.
- García-Arenas, G., Ramírez-Amaya Bermúdez-Rattoni, V., Balderas, I., Sandoval, J., Escobar, M. L., Ríos, C., & Bermúdez-Rattoni, F. (2004). Cognitive deficits in adult rats by lead intoxication are related with regional specific inhibition of cNOS. *Behavioural Brain Research*, *149*(1), 49-59.
- Glajch, K. E., Ferraiuolo, L., Mueller, K. A., Stopford, M. J., Prabhkar, V., Gravanis, A., ... Sadri-Vakili, G. (2016). MicroNeurotrophins Improve Survival in Motor Neuron-Astrocyte Co-Cultures but Do Not Improve Disease Phenotypes in a Mutant SOD1 Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLOS ONE*, *11*(10), e0164103.
- Grace, A. (2000). Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, *31*(2-3), 330-341.
- Gravanis, A., Peditakis, I., & Charalampopoulos, I. (2017). Synthetic microneurotrophins in therapeutics of neurodegeneration. *Oncotarget*, *8*(6).
- Griffon, N., Sokoloff, P., Diaz, J., Lévesque, D., Sautel, F., Schwartz, J., ... Wermuth, C. (1995). The dopamine D3 receptor and schizophrenia: pharmacological, anatomical and genetic approaches. *European Neuropsychopharmacology*, *5*, 3-9.
- Gross, G., Wicke, K., & Drescher, K. U. (2012). Dopamine D3 receptor antagonism—still a therapeutic option for the treatment of schizophrenia. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *386*(2), 155-166.
- Häfner, H., Löffler, W., Maurer, K., Hambrecht, M. & Heiden, W. (1999). Depression, negative symptoms, social stagnation and social decline in the early course of schizophrenia. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *100*(2), 105-118.

- Hashimoto, K., Fujita, Y., & Iyo, M. (2006). Phencyclidine-Induced Cognitive Deficits in Mice are Improved by Subsequent Subchronic Administration of Fluvoxamine: Role of Sigma-1 Receptors. *Neuropsychopharmacology*, 32(3), 514-521.
- Hof, P., Haroutunian, V., Friedrich, V., Byne, W., Buitron, C., Perl, D. & Davis, K. (2003). Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 53(12), 1075-1085.
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2007). NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Effects on Prefrontal Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(43), 11496-11500.
- Honey, G., & Fletcher, P. (2006). Investigating principles of human brain function underlying working memory: What insights from schizophrenia? *Neuroscience*, 139(1), 59-71.
- Howes, O., McCutcheon, R., & Stone, J. (2015). Glutamate and dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century. *Journal of Psychopharmacology*, 29(2), 97-115.
- Hunt, M. J., Kessal, K., & Garcia, R. (2005). Ketamine Induces Dopamine-Dependent Depression of Evoked Hippocampal Activity in the Nucleus Accumbens in Freely Moving Rats. *Journal of Neuroscience*, 25(2), 524-531.
- Ibán-Arias, R., Lisa, S., Mastrodimou, N., Kokona, D., Koulakis, E., Iordanidou, P., ... Thermos, K. (2017). The Synthetic Microneurotrophin BNN27 Affects Retinal Function in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetes*, 67(2), 321-333.
- Jarskog, L. F. (2006). Apoptosis in schizophrenia: pathophysiologic and therapeutic considerations. *Current Opinion in Psychiatry*, 19(3), 307-312.
- Kandel, E. R., & Mack, S. (2014). *Principles of neural science*. The McGraw-Hill Companies.

- Kapur, S., & Remington, G. (2001). Atypical Antipsychotics: New Directions and New Challenges in the Treatment of Schizophrenia. *Annual Review of Medicine*, 52(1), 503-517.
- Kapur, S., & Seeman, P. (2001). Does Fast Dissociation From the Dopamine D2 Receptor Explain the Action of Atypical Antipsychotics?: A New Hypothesis. *American Journal of Psychiatry*, 158(3), 360-369.
- Kegeles, L. S., Slifstein, M., Frankle, W. G., Xu, X., Hackett, E., Bae, S., ... Abi-Dargham, A. (2008). Dose-Occupancy Study of Striatal and Extrastriatal Dopamine D2 Receptors by Aripiprazole in Schizophrenia with PET and [18F]Fallypride. *Neuropsychopharmacology*, 33(13), 3111-3125.
- Keshavan, M. S. (1999). Development, disease and degeneration in schizophrenia: a unitary pathophysiological model. *Journal of Psychiatric Research*, 33(6), 513-521.
- Kessal, K., Chessel, A., Spennato, G., & Garcia, R. (2005). Ketamine and amphetamine both enhance synaptic transmission in the amygdala-nucleus accumbens pathway but with different time-courses. *Synapse*, 57(1), 61-65.
- Kimionides, V. G., Khatibi, N. H., Svendsen, C. N., Sofroniew, M. V., & Herbert, J. (1998). Dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-sulfate (DHEAS) protect hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(4), 1852-1857.
- Koros, E., Rosenbrock, H., Birk, G., Weiss, C., & Sams-Dodd, F. (2007). The Selective mGlu5 Receptor Antagonist MTEP, Similar to NMDA Receptor Antagonists, Induces Social Isolation in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 32(3), 562-576.
- Kring, A. M., Johnson, S. L., Davison, G. C., & Neale, J. M. (2010). *Abnormal psychology*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

- Lally, J., & MacCabe, J. H. (2015). Antipsychotic medication in schizophrenia: a review. *British Medical Bulletin*, *114*(1), 169-179.
- Lapchak, P. A., Chapman, D. F., Nunez, S. Y., Zivin, J. A., & Hsu, C. Y. (2000). Dehydroepiandrosterone Sulfate Is Neuroprotective in a Reversible Spinal Cord Ischemia Model : Possible Involvement of GABAA Receptors Editorial Comment: Possible Involvement of GABAA Receptors. *Stroke*, *31*(8), 1953-1957.
- Lazaridis, I., Charalampopoulos, I., Alexaki, V., Avlonitis, N., Pediaditakis, I., Efstathopoulos, P., ... Gravanis, A. (2011). Neurosteroid Dehydroepiandrosterone Interacts with Nerve Growth Factor (NGF) Receptors, Preventing Neuronal Apoptosis. *PLoS Biology*, *9*(4), e1001051.
- Leff, J., Sartorius, N., Jablensky, A., Korten, A. & Ernberg, G. (1992). The International Pilot Study of Schizophrenia: five-year follow-up findings¹. *Psychological Medicine*, *22*(01), p.131.
- Leskiewicz, M., Regulaska, M., Budziszewska, B., Jantas, D., Jaworska-Feil, L., Basta-Kaim, A., ... Lason, W. (2008). Effects of neurosteroids on hydrogen peroxide- and staurosporine-induced damage of human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Journal of Neuroscience Research*, *86*(6), 1361-1370.
- Liddle, P. F. (1987). The Symptoms of Chronic Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*, *151*(02), 145-151.
- Liu, D., & Dillon, J. S. (2002). Dehydroepiandrosterone Activates Endothelial Cell Nitric-oxide Synthase by a Specific Plasma Membrane Receptor Coupled to Gαi2,3. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(24), 21379-21388.
- Maayan, R., Ram, E., Biton, D., Cohen, H., Baharav, E., Strous, R. D., & Weizman, A. (2012). The influence of DHEA pretreatment on prepulse inhibition and the HPA-

axis stress response in rat offspring exposed prenatally to polyriboinosinic–polyribocytidylic-acid (PIC). *Neuroscience Letters*, 521(1), 6-10.

Mahadik, S. P., & Mukherjee, S. (1996). Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophrenia Research*, 19(1), 1-17.

Mahadik, S. P., Evans, D., & Lal, H. (2001). Oxidative stress and role of antioxidant and ω -3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25(3), 463-493.

Mahadik, S. P., Mukherjee, S., Scheffer, R., Correnti, E. E., & Mahadik, J. S. (1998). Elevated Plasma Lipid Peroxides at the Onset of Nonaffective Psychosis. *Biological Psychiatry*, 43(9), 674-679.

Marx, C. E., Jarskog, L., Lauder, J. M., Gilmore, J. H., Lieberman, J. A., & Morrow, A. (2000). Neurosteroid modulation of embryonic neuronal survival in vitro following anoxia. *Brain Research*, 871(1), 104-112.

Maurice, T., Grégoire, C., & Espallergues, J. (2006). Neuro(active)steroids actions at the neuromodulatory sigma1 (σ 1) receptor: Biochemical and physiological evidences, consequences in neuroprotection. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 84(4), 581-597.

Maurice, T., Urani, A., Phan, V., & Romieu, P. (2001). The interaction between neuroactive steroids and the σ 1 receptor function: behavioral consequences and therapeutic opportunities. *Brain Research Reviews*, 37(1-3), 116-132.

McDonald, C., Grech, A., Touloupoulou, T., Schulze, K., Chapple, B., Sham, P., Walshe, M., Sharma, T., Sigmundsson, T., Chitnis, X. & Murray, R. (2002). Brain volumes in familial and non-familial schizophrenic probands and their unaffected relatives. *American Journal of Medical Genetics*, 114(6), 616-625.

- McGrath, J. J., Féron, F. P., Burne, T. H., Mackay-Sim, A., & Eyles, D. W. (2003). The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: a review of recent developments. *Annals of Medicine, 35*(2), 86-93.
- Meltzer, H. Y. (1999). The Role of Serotonin in Antipsychotic Drug Action. *Neuropsychopharmacology, 21*, S106-S115.
- Meneses, A. (1999). 5-HT system and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 23*(8), 1111-1125.
- Michele, F. D., Caltagirone, C., Bonaviri, G., Romeo, E., & Spalletta, G. (2005). Plasma dehydroepiandrosterone levels are strongly increased in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research, 39*(3), 267-273.
- Miyake, N., Thompson, J., Skinbjerg, M., & Abi-Dargham, A. (2011). Presynaptic dopamine in schizophrenia. *CNS Neuroscience & Therapeutics, 17*(2), 104-109.
- Mogenson, G., Jones, D., & Yim, C. (1980). From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology, 14*(2-3), 69-97.
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., & Daly, D. (1997). Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience, 17*(8), 2921-2927.
- Morgan, C. J., Mofeez, A., Brandner, B., Bromley, L., & Curran, H. V. (2003). Acute Effects of Ketamine on Memory Systems and Psychotic Symptoms in Healthy Volunteers. *Neuropsychopharmacology, 29*(1), 208-218.
- Mortensen, P., Cantor-Graae, E. & McNeil, T. (1997). Increased rates of schizophrenia among immigrants: some methodological concerns raised by Danish findings. *Psychological Medicine, 27*(4), 813-820.

- Mortensen, P., Pedersen, C., Westergaard, T., Wohlfahrt, J., Ewald, H., Mors, O., Andersen, P. & Melbye, M. (1999). Effects of Family History and Place and Season of Birth on the Risk of Schizophrenia. *New England Journal of Medicine*, 340(8), 603-608.
- Mukherjee, S., Mahadik, S. P., Scheffer, R., Correnti, E. E., & Kelkar, H. (1996). Impaired antioxidant defense at the onset of psychosis. *Schizophrenia Research*, 19(1), 19-26.
- Nachshoni, T., Ebert, T., Abramovitch, Y., Assaelamir, M., Kotler, M., Maayan, R., ... Strous, R. (2005). Improvement of extrapyramidal symptoms following dehydroepiandrosterone (DHEA) administration in antipsychotic treated schizophrenia patients: A randomized, double-blind placebo controlled trial. *Schizophrenia Research*, 79(2-3), 251-256.
- Onley, J. W., & Farber, N. B. (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 52(12), 998-1007.
- O'Shea, M., McGregor, I. S., & Mallet, P. E. (2006). Repeated cannabinoid exposure during perinatal, adolescent or early adult ages produces similar longlasting deficits in object recognition and reduced social interaction in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 20(5), 611-621.
- Pakkenberg, B. (1987). Post-mortem Study of Chronic Schizophrenic Brains. *British Journal of Psychiatry*, 151(06), 744-752.
- Pediaditakis, I., Iliopoulos, I., Theologidis, I., Delivanoglou, N., Margioris, A. N., Charalampopoulos, I., & Gravanis, A. (2015). Dehydroepiandrosterone: An Ancestral Ligand of Neurotrophin Receptors. *Endocrinology*, 156(1), 16-23.
- Pediaditakis, I., Kourgiantaki, A., Prousis, K. C., Potamitis, C., Xanthopoulos, K. P., Zervou, M., ... Gravanis, A. (2016). BNN27, a 17-Spiroepoxy Steroid Derivative, Interacts With and Activates p75 Neurotrophin Receptor, Rescuing Cerebellar Granule Neurons from Apoptosis. *Frontiers in Pharmacology*, 7.

- Peng, R., & Li, Y. (2017). Association among serum cortisol, dehydroepiandrosterone-sulfate levels and psychiatric symptoms in men with chronic schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry*, *76*, 113-118.
- Pérez-Neri, I., Ramírez-Bermúdez, J., Montes, S., & Ríos, C. (2006). Possible Mechanisms of Neurodegeneration in Schizophrenia. *Neurochemical Research*, *31*(10), 1279-1294.
- Pitsikas, N., & Gravanis, A. (2017). The novel dehydroepiandrosterone (DHEA) derivative BNN27 counteracts delay-dependent and scopolamine-induced recognition memory deficits in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *140*, 145-153.
- Pitsikas, N., Bouladakis, A., & Sakellaridis, N. (2008). Effects of sub-anesthetic doses of ketamine on rats' spatial and non-spatial recognition memory. *Neuroscience*, *154*(2), 454-460.
- Prast, H., & Philippu, A. (2001). Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progress in Neurobiology*, *64*(1), 51-68.
- Razoux, F., Garcia, R., & Léna, I. (2007). Ketamine, at a Dose that Disrupts Motor Behavior and Latent Inhibition, Enhances Prefrontal Cortex Synaptic Efficacy and Glutamate Release in the Nucleus Accumbens. *Neuropsychopharmacology*, *32*(3), 719-727.
- Reddy, D. S., & Kulkarni, S. K. (1998). Possible role of nitric oxide in the nootropic and anti-amnesic effects of neurosteroids on aging- and dizocilpine-induced learning impairment. *Brain Research*, *799*(2), 215-229.
- Reddy, R., & Yao, J. K. (1997). Free radical pathology in schizophrenia: A review. *Schizophrenia Research*, *24*(1-2), 67.

- Riahi, F., Izadi-mazidi, M., Ghaffari, A., Yousefi, E., & Khademvatan, S. (2016). Comparison of Plasma Neurosteroid and Prolactin Levels in Patients with Schizophrenia and Healthy Individuals. *Scientifica*, 2016, 1-6.
- Ritsner, M. S. (2010). Pregnenolone, Dehydroepiandrosterone, and Schizophrenia: Alterations and Clinical Trials. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(1), 32-44.
- Ritsner, M. S., Gibel, A., Ratner, Y., & Weizman, A. (2008). Dehydroepiandrosterone and Pregnenolone Alterations in Schizophrenia. *Neuroactive Steroids in Brain Function, Behavior and Neuropsychiatric Disorders*, 251-297.
- Ritsner, M., Gibel, A., Ram, E., Maayan, R., & Weizman, A. (2006). Alterations in DHEA metabolism in schizophrenia: Two-month case-control study. *European Neuropsychopharmacology*, 16(2), 137-146.
- Ritsner, M., Maayan, R., Gibel, A., & Weizman, A. (2007). Differences in blood pregnenolone and dehydroepiandrosterone levels between schizophrenia patients and healthy subjects. *European Neuropsychopharmacology*, 17(5), 358-365.
- Ritsner, M., Maayan, R., Gibel, A., Strous, R. D., Modai, I., & Weizman, A. (2004). Elevation of the cortisol/dehydroepiandrosterone ratio in schizophrenia patients. *European Neuropsychopharmacology*, 14(4), 267-273.
- Roberts, E., Bologna, L., Flood, J. F., & Smith, G. E. (1987). Effects of dehydroepiandrosterone and its sulfate on brain tissue in culture and on memory in mice. *Brain Research*, 406(1-2), 357-362.
- Saha, S., Chant, D., Welham, J., & McGrath, J. (2005). A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia. *PLoS Medicine*, 2(5).
- Sanyal, S., & Van Tol, H. H. (1997). Review the role of dopamine D4 receptors in schizophrenia and antipsychotic action. *Journal of Psychiatric Research*, 31(2), 219-232.

- Schultz, S. H., North, S. W., & Shields, C. G. (2007). Schizophrenia: A Review. *American Family Physician*, 75, 1821-1829.
- Seeman, P., Chau-Wong, M., Tedesco, J., & Wong, K. (1975). Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(11), 4376-4380.
- Selemon, L., Rajkowska, G. & Goldman-Rakic, P. (1998). Elevated neuronal density in prefrontal area 46 in brains from schizophrenic patients: Application of a three-dimensional, stereologic counting method. *The Journal of Comparative Neurology*, 392(3), 402-412.
- Sesack, S. R., & Pickel, V. M. (1990). In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Research*, 527(2), 266-279.
- Shirayama, Y., Hashimoto, K., Suzuki, Y., & Higuchi, T. (2002). Correlation of plasma neurosteroid levels to the severity of negative symptoms in male patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 58(1), 69-74.
- Srivastava, N., Barthwal, M., Dalal, P., Agarwal, A., Nag, D., Srimal, R., ... Dikshit, M. (2001). Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients. *Psychopharmacology*, 158(2), 140-145.
- Stahl, S. & Schwartz, T. (2016). *Stahl's Essential Psychopharmacology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Strous, R. D., Maayan, R., Lapidus, R., Stryjer, R., Lustig, M., Kotler, M., & Weizman, A. (2003). Dehydroepiandrosterone Augmentation in the Management of Negative, Depressive, and Anxiety Symptoms in Schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 60(2), 133.

- Tarazi, F. I. (2001). Neuropharmacology of dopamine receptors: Implications in neuropsychiatric diseases. *J Sci Res Med Sci*, 3(2), 93-104.
- Taylor, S. F., & Tso, I. F. (2015). GABA abnormalities in schizophrenia: A methodological review of in vivo studies. *Schizophrenia Research*, 167(1-3), 84-90.
- Torrey, E. & Yolken, R. (1998). Is Household Crowding a Risk Factor for Schizophrenia and Bipolar Disorder?. *Schizophrenia Bulletin*, 24(3), 321-324.
- Trabace, L., & Kendrick, K. M. (2000). Nitric Oxide Can Differentially Modulate Striatal Neurotransmitter Concentrations via Soluble Guanylate Cyclase and Peroxynitrite Formation. *Journal of Neurochemistry*, 75(4), 1664-1674.
- Trevlopoulou, A., Touzlatzi, N., & Pitsikas, N. (2015). The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behaviour in rats. *Psychopharmacology*, 233(6), 1045-1054.
- Tsai, G., Goff, D. C., Chang, R. W., Flood, J., Baer, L., & Coyle, J. T. (1998). Markers of Glutamatergic Neurotransmission and Oxidative Stress Associated With Tardive Dyskinesia. *American Journal of Psychiatry*, 155(9), 1207-1213.
- Vasconcelos, G. S., Ximenes, N. C., De Sousa, C. N., Oliveira, T. D., Lima, L. L., De Lucena, D. F., ... Vasconcelos, S. M. (2015). Alpha-lipoic acid alone and combined with clozapine reverses schizophrenia-like symptoms induced by ketamine in mice: Participation of antioxidant, nitroergic and neurotrophic mechanisms. *Schizophrenia Research*, 165(2-3), 163-170.
- Vilar, M., Charalampopoulos, I., Kenchappa, R. S., Simi, A., Karaca, E., Reversi, A., ... Ibáñez, C. F. (2009). Activation of the p75 Neurotrophin Receptor through Conformational Rearrangement of Disulphide-Linked Receptor Dimers. *Neuron*, 62(1), 72-83.

- Webb, S. J., Geoghegan, T. E., & Prough, R. A. (2006). The biological actions of dehydroepiandrosterone involves multiple receptors. *Drug Metab Rev*, 38, 89-116.
- Weiss, E. P., Villareal, D. T., Fontana, L., Han, D., & Holloszy, J. O. (2011). Dehydroepiandrosterone (DHEA) replacement decreases insulin resistance and lowers inflammatory cytokines in aging humans. *Aging*, 3(5), 533-542.
- West, A. R., & Grace, A. A. (2000). Striatal Nitric Oxide Signaling Regulates the Neuronal Activity of Midbrain Dopamine Neurons In Vivo. *Journal of Neurophysiology*, 83(4), 1796-1808.
- Woo, T., Whitehead, R. E., Melchitzky, D. S., & Lewis, D. A. (1998). A subclass of prefrontal -aminobutyric acid axon terminals are selectively altered in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(9), 5341-5346.
- Xilouri, M., Avlonitis, N., Calogeropoulou, T., & Papazafiri, P. (2007). Neuroprotective effects of steroid analogues on P19-N neurons. *Neurochemistry International*, 50(4), 660-670.
- Yao, J. K., Reddy, R. D., & Van Kammen, D. P. (2001). Oxidative Damage and Schizophrenia. *CNS Drugs*, 15(4), 287-310
- Yao, J. K., Reddy, R., McElhinny, L. G., & Van Kammen, D. P. (1998). Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 32(1), 1-8.
- Yılmaz, N., Herken, H., Cicek, H. K., Celik, A., Yürekli, M., & Akyol, Ö. (2007). Increased Levels of Nitric Oxide, Cortisol and Adrenomedullin in Patients with Chronic Schizophrenia. *Medical Principles and Practice*, 16(2), 137-141.

- Young, J., McKinney, S., Ross, B., Wahle, K., & Boyle, S. (2007). Biomarkers of oxidative stress in schizophrenic and control subjects. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 76(2), 73-85.
- Zahm, D., & Brog, J. (1992). On the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. *Neuroscience*, 50(4), 751-767.
- Zhang, X. Y., Tan, Y. L., Cao, L. Y., Wu, G. Y., Xu, Q., Shen, Y., & Zhou, D. F. (2006). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophrenia Research*, 81(2-3), 291-300.