



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ

Ανάπτυξη ενός μοντέλου για τη μελέτη της
Διπολικής Διαταραχής και της δράσης των
σταθεροποιητικών της διάθεσης στον επίμυ



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΥΡΙΚΑΚΗ ΜΑΡΙΑ-ΥΠΑΚΟΗ

ΨΥΧΟΛΟΓΟΣ

MSc ΣΤΙΣ ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΕΣ

ΡΕΘΥΜΝΟ 2011



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Επιβλέπων:

Παναγής Γεώργιος

Αναπληρωτής Καθηγητής

Βιοψυχολογίας

Μέλη:

Καστελλάκης Ανδρέας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Ψυχοφυσιολογίας

Θερμού Κυριακή

Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Θερμού Κυριακή

Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Καραγωγέως Δόμνα

Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας-

Αναπτυξιακής Νευροβιολογίας

Σίμος Παναγιώτης

Καθηγητής Εξελικτικής

Νευροψυχολογίας

Καστελλάκης Ανδρέας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Ψυχοφυσιολογίας

Παναγής Γεώργιος

Αναπληρωτής Καθηγητής

Βιοψυχολογίας

Μπίτσιος Παναγιώτης

Επίκουρος Καθηγητής Ψυχιατρικής

Χαραλαμπόπουλος Ιωάννης

Λέκτορας Φαρμακολογίας

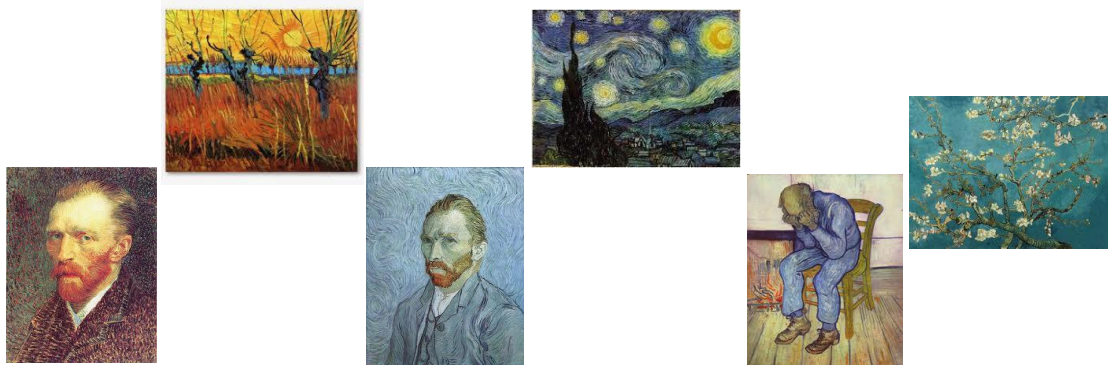
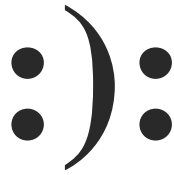
Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ψυχολογίας της Σχολής Κοινωνικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

N. 5343/1932 άρθρο 202

«Εκείνο που γνωρίζουμε είναι μηδενικό,
εκείνο που αγνοούμε είναι άπειρο»

Pierre-Simon Laplace, 1749-1827

$x \rightarrow \infty$



Vincent van Gogh (1853-1890): Όταν το συναίσθημα συνάντησε την τέχνη. Ένας από τους σημαντικότερους ζωγράφους όλων των εποχών αλλά και από τους πλέον διάσημους διπολικούς ασθενείς. Οι έντονες εναλλαγές του συναισθήματος αναδεικνύονται μέσα από τα έργα του και επηρέασαν σημαντικά την μετέπειτα έκφραση του εξπρεσιονισμού. Κατά τα πρώτα νεανικά του χρόνια παρουσίασε συμπτώματα μελαγχολίας. Ξεκίνησε μαθήματα ζωγραφικής το 1880, ενώ το 1888, επινοεί μια ιδιαίτερη τεχνική στροβιλισμών με το πινέλο και στα έργα του κυριαρχούν τα έντονα χρώματα. Ένα χρόνο αργότερα εισάγεται σε κέντρο ψυχικής υγείας αφού πρωτίστως είχε κόψει μέρος του αριστερού του αυτιού. Το 1890 εμφανίζει και πάλι έντονα καταθλιπτικά συμπτώματα που τον οδήγησαν στην αυτοκτονία με αυτό-πυροβολισμό.

Χαρακτηριστικό του έργου του είναι ότι δημιούργησε πολλές αυτό-προσωπογραφίες. Μάλιστα, μεταξύ του 1886 με 1889 ζωγράφισε τον εαυτό του 37 φορές!

*Σ' εκείνους που χαρίσανε
γονότυπο σε μένα,
μα κι ερεθίσματα πολλά
πρόσωπα λατρεμένα!*

Στους αγαπημένους μου γονείς

Μιχάλη & Νίκη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	19
B. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	25
1. Γενικά χαρακτηριστικά-Συμπτωματολογία της Διπολικής Διαταραχής..	25
2. Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία ΔΔ.....	28
2.1. Γενετική βάση ΔΔ.....	29
2.2. Νευροανατομία ΔΔ.....	33
2.3. Νευροχημεία ΔΔ.....	37
2.3.1. Ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος και ΔΔ.....	38
2.3.1.1. Διαταραχές της δραστηριότητας ενζύμων στη ΔΔ και η σημασία της φωσφορυλίωσης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος.....	38
2.3.1.2. Το ενδοκυττάριο μονοπάτι του κυκλικού AMP.....	39
2.3.1.2.1. Ο μεταγραφικός παράγοντας CREB.....	41
2.3.1.3. Το ενδοκυττάριο μονοπάτι των φωσφολιπιδίων.....	44
2.3.1.4. Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος.....	48
2.3.1.5. Η κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου 3 (GSK-3).....	50
2.3.1.6. Η ασβέστιο-εξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης II (CaMKII).....	54
2.3.1.7. Η Fyn.....	56
2.3.1.8. Το μονοπάτι των BDNF/ERK και η νευροτροφική υπόθεση.....	59
3. Η υπόθεση της πλαστικότητας για τις συναισθηματικές διαταραχές.....	63
3.1. Γλουταμινεργικό Σύστημα και πλαστικότητα.....	66
3.1.1. Σύσταση NMDA υποδοχέων.....	68
3.1.1.1. Διακίνηση (trafficking) NMDA υποδοχέων.....	71
3.1.2. Σύσταση AMPA υποδοχέων.....	74
3.1.2.1. Διακίνηση (trafficking) AMPA υποδοχέων.....	75
3.1.3. Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας.....	76
3.1.3.1. Μακρόχρονη ενδυνάμωση (LTP).....	78
3.1.3.2. Μακρόχρονη καταστολή (LTD).....	82
4. Φαρμακοθεραπεία.....	84
5. Μηχανισμός δράσης σταθεροποιητικών της διάθεσης.....	88
5.1. Μοριακοί μηχανισμοί δράσης σταθεροποιητικών της διάθεσης.....	88
5.2. Λίθιο (Li ⁺).....	89

5.2.1. Ιοντικός μηχανισμός δράσης λιθίου.....	90
5.2.2. Ένζυμα που αποτελούν άμεσους στόχους δράσης λιθίου.....	91
5.2.3. Έμμεσοι στόχοι δράσης λιθίου.....	92
5.2.3.1. Ενδοκυττάριο μονοπάτι κυκλικού AMP.....	92
5.2.3.2. Επιδράσεις στο μονοπάτι της φωσφοϊνοσιτόλης και της PKC.....	94
5.2.3.3. Επιδράσεις στην GSK-3.....	95
5.2.3.4. Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος.....	95
5.2.3.5. Επιδράσεις στο μονοπάτι των ERK/Bcl2.....	96
5.3. Βαλπροϊκό οξύ (VPA).....	97
5.3.1. Αύξηση επιπέδων GABA.....	98
5.3.2. Τασεοεξαρτώμενοι δίαυλοι Na ⁺	98
5.3.3. Μονοπάτι φωσφοϊνοσιτόλης/PKC.....	98
5.3.4. Επιδράσεις στο μονοπάτι των ERK/Bcl-2.....	98
5.3.5. Ενδοκυττάριο μονοπάτι των Wnt/GSK-3.....	99
5.3.6. Επιδράσεις στα λιπίδια και το μεταβολισμό τους.....	99
5.3.7. Ενδοκυττάριο μονοπάτι κυκλικού AMP.....	99
5.3.8. Αλλαγές σε γενωμικό επίπεδο-Γονιδιακή έκφραση.....	100
5.3.8.1. Ιστόνη αποακετυλάση (<i>histone deacetylase, HDAC</i>).....	100
5.4. Αριπιπραζόλη.....	101
6. Ζωικά μοντέλα για τη διπολική διαταραχή - Η θεωρία των ενδοφαινοτύπων.....	105
7. Διαταραχή του νευρωνικού κυκλώματος ανταμοιβής και συναφών λειτουργιών στη ΔΔ.....	107
7.1. Αλληλεπίδραση ντοπαμινεργικού κυκλώματος ανταμοιβής και γλουταμινεργικού συστήματος.....	112
Γ. ΣΚΟΠΟΣ.....	115
Δ. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	118
1. Πειραματόζωα.....	118
2. Πειραματικές μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.....	118
2.1 Χειρουργικές επεμβάσεις- Στερεοταξική εμφύτευση ηλεκτροδίων.....	118
2.2. Χρόνος διεξαγωγής πειραμάτων.....	119

2.3 Εξοικείωση πειραματόζωων (handling-Διαδικασία χορηγήσεων).....	120
2.4 Το πειραματικό πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.....	120
2.5 Πειραματική διάταξη και παράμετροι του ερεθισμού.....	120
2.6 Εκπαίδευση των πειραματόζωων στη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.....	121
2.7 Επεξεργασία και ανάλυση δεδομένων.....	123
2.8 Η μέθοδος μετατόπισης της καμπύλης.....	124
2.9. Ολοκλήρωση πειραματικής διαδικασίας και ιστολογική επαλήθευση των σημείων εμφύτευσης των ηλεκτροδίων.....	125
3. Μοριακές μελέτες ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος.....	126
3.1 Ανοσοαποτύπωση κατά Western.....	126
3.2 Μέτρηση και ανάλυση μοριακών δεδομένων.....	127
4. Στατιστική ανάλυση.....	128
5. Πειραματικός Σχεδιασμός.....	129
5.1. Μελέτη πρώτη. Μελέτη των επιδράσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση.....	129
5.1.1. Μελέτη των επιδράσεων του χλωριούχου λιθίου (LiCl) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση.....	129
5.1.2. Μελέτη των επιδράσεων του βαλπροϊκού οξέος (VPA) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση.....	129
5.1.3. Μελέτη των επιδράσεων της συγχορήγησης χλωριούχου λιθίου (LiCl) και βαλπροϊκού οξέος (VPA) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση.....	129
5.1.4. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας συστηματικής χορήγησης αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	130
5.2. Μελέτη δεύτερη. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	130
5.2.1. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης LiCl στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	130

5.2.2. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης VPA στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	130
5.2.3. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας συνδυασμένης προ-χορήγησης LiCl και VPA στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	131
5.2.4. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης αριπιπραζόλης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	131
5.3. Μελέτη τρίτη. Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού..	131
5.3.1. Μέτρηση επιπέδων LiCl και VPA στο πλάσμα έπειτα από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών.....	132
5.4. Μελέτη τέταρτη. Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	132
5.5. Μελέτη πέμπτη. Μελέτη νευρωνικής πλαστικότητας στον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης.....	134
5.5.1. Μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης.....	135
5.5.2. Μελέτη της παρουσίας της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR1-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης	
(i) Μελέτη της δραστηριότητας της PKC μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKC, τη Ser ⁸⁹⁶	
(ii) Μελέτη της δραστηριότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser ⁸⁹⁷	136
5.5.3. Μελέτη της παρουσίας της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR2B-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης.....	136

- (i) Μελέτη της δραστικότητας της CaMK II και της PKC μελετώντας τη θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την CaMK II και PKC, τη Ser¹³⁰³
- (ii) Μελέτη της δραστικότητας της Fyn μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την Fyn, τη Tyr¹⁴⁷²136
- 5.5.4. Μελέτη της παρουσίας της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη σύναψη και διαβίβαση σήματος μέσω AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης
- (i) Μελέτη της δραστικότητας των CaMK II και PKC κινασών, μελετώντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹
- (ii) Μελέτη της δραστικότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser⁸⁴⁵-Υποδοχείς που εκφράζονται στη σύναψη.....136
- 5.6.1. Μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης.....137
- 5.6.2. Μελέτη της παρουσίας της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR1-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης
- (i) Μελέτη της δραστηριότητας της PKC μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKC, τη Ser⁸⁹⁶
- (ii) Μελέτη της δραστικότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser⁸⁹⁷137
- 5.6.3. Μελέτη της παρουσίας της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR2B-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης
- (i) Μελέτη της δραστικότητας της CaMK II και της PKC μελετώντας τη θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την CaMK II και την PKC, τη Ser¹³⁰³
- (ii) Μελέτη της δραστικότητας της Fyn μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την Fyn, την Tyr¹⁴⁷²137
- 5.6.4. Μελέτη της παρουσίας της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη σύναψη και διαβίβαση σήματος μέσω AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης
- (i) Μελέτη της δραστικότητας των CaMK II και PKC κινασών, μελετώντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹

(ii) Μελέτη της δραστικότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της <i>GluRI</i> υπομονάδας από την PKA, τη <i>Ser</i> ⁸⁴⁵ -Υποδοχείς που εκφράζονται στη σύναψη.	137
E. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	139
1. Πειραματικές μελέτες ενδοκρνιακού αυτοερεθισμού.....	139
1.1. Μελέτη πρώτη: Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.....	139
1.1.1. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης <i>LiCl</i> στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.....	139
1.1.2. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης <i>VPA</i> στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.....	139
1.1.3. Επιδράσεις της οξείας συγχορήγησης <i>LiCl</i> και <i>VPA</i> στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.....	140
1.1.4. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.....	140
1.2. Μελέτη δεύτερη: Επιδράσεις της οξείας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	142
1.2.1. Επιδράσεις της οξείας προ-χορήγησης <i>LiCl</i> στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	142
1.2.2. Επιδράσεις της οξείας προ-χορήγησης <i>VPA</i> στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	143
1.2.3. Επιδράσεις της οξείας συγχορήγησης <i>LiCl</i> και <i>VPA</i> στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	143
1.2.4. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης αριπιπραζόλης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	144
1.3. Μελέτη τρίτη: Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από χρόνια χορήγηση.....	148
1.3.1 Επίπεδα <i>LiCl</i> και <i>VPA</i> στο πλάσμα μετά από χρόνια χορήγηση.....	148

1.3.2. <i>Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από χρόνια χορήγηση</i>	148
1.4. <i>Μελέτη τέταρτη: Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού</i>	151
2. Μοριακές μελέτες ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος	154
2.1. Έλεγχος ποσότητας πρωτεϊνών.....	154
2.2. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό</i>	155
2.2.1. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό</i>	155
2.2.2. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό</i>	156
2.2.3. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ και Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό</i>	157
2.2.4. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό</i>	158
2.3. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό</i>	159
2.3.1. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό</i>	159
2.3.2. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό</i>	160
2.3.3. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ και Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό</i>	162
2.3.4. <i>Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό</i>	164

ΣΤ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	166
1. Συμπεριφορικές μελέτες.....	166
1.1.Επιδράσεις οξέων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού	
(i) LiCl.....	166
(ii) VPA.....	167
(ii) LiCl & VPA.....	167
(iv) Αριπιπραζόλη.....	168
(v) Σύνοψη επιδράσεων οξέων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης....	168
1.2.Επιδράσεις οξέων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού	
(i) LiCl.....	169
(ii) VPA.....	170
(ii) LiCl & VPA.....	170
(iv) Αριπιπραζόλη.....	171
(v) Σύνοψη επιδράσεων οξέων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	171
1.3.Επιδράσεις χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού	
(i) LiCl.....	173
(ii) VPA.....	174
(ii) LiCl & VPA.....	174
(iv) Αριπιπραζόλη.....	174
(v) Σύνοψη επιδράσεων χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης.	174
1.4.Επιδράσεις χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού	
(i) LiCl.....	176
(ii) VPA.....	177
(ii) LiCl & VPA.....	177
(iv) Αριπιπραζόλη.....	177

(v) Σύνοψη επιδράσεων χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.....	178
1.5. Σύνοψη συμπεριφορικών δεδομένων	179
2.1. Νευρωνική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό.....	181
2.1.1. <i>Πρώτο επίπεδο: ρύθμιση γονιδιακής μεταγραφής -Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό.....</i>	181
2.1.2. <i>Δεύτερο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό- Δραστικότητα κινασών</i>	
(i) PKA.....	184
(ii) PKC.....	186
(iii) CaMKII.....	188
(iv) Fyn.....	190
2.1.3. <i>Τρίτο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην συναπτική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό.....</i>	191
(i) <i>Διακίνηση NMDA υποδοχέων.....</i>	191
(ii) <i>Διακίνηση AMPA υποδοχέων.....</i>	194
(iii) <i>Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας.....</i>	196
2.2. Νευρωνική πλαστικότητα στο κοιλιακό ραβδωτό.....	197
2.2.1. <i>Πρώτο επίπεδο: ρύθμιση γονιδιακής μεταγραφής -Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό.....</i>	197
2.2.2. <i>Δεύτερο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό- Δραστικότητα κινασών</i>	
(i) PKA.....	200
(ii) PKC.....	201
(iii) CaMKII.....	202
(iv) Fyn.....	203
2.2.3. <i>Τρίτο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην συναπτική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό.....</i>	206
(i) <i>Διακίνηση NMDA υποδοχέων.....</i>	206

(ii) Διακίνηση AMPA υποδοχέων.....	209
(iii) Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας.....	212
2.3. Νευρωνική πλαστικότητα κυκλώματος ανταμοιβής.....	213
3. Γενική συζήτηση συμπεράσματα.....	219
Z. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	228
H. ABSTRACT.....	232
Θ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	235
1. Συντομογραφίες.....	235
2. Πρωτόκολλο ανοσοαποτύπωσης κατά Western.....	243
H. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ.....	247

Α. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ολοκληρώνοντας ένα σημαντικό κύκλο ζωής, αναπόφευκτα η συνειρμική μνήμη σε πάει πίσω στα πρώτα στάδια και τα πρώτα γνωστικά σχήματα που έχει σχηματίσει γι' αυτόν. Όσο παράδοξο και αν ακούγεται για τα ελληνικά δεδομένα, τον όρο Νευροεπιστήμες τον άκουσα για πρώτη φορά ως μαθήτρια τρίτης δημοτικού! Παρ' όλο που η ιστορία της Ελληνικής Εταιρείας Νευροεπιστημών ξεκίνησε το έτος γέννησής μου, λίγα χρόνια αργότερα έμελε να έρθω σε επαφή με την ιδέα των επιστημών του εγκεφάλου και να νιώσω θαυμασμό γι' αυτές. Το ερέθισμα αποτέλεσε ένας συμμαθητής μου, κατά το ήμισυ αμερικανός, ο οποίος δήλωνε ότι ήθελε να γίνει «Νευροεπιστήμονας»! Για κάποιο λόγο και μόνο στο άκουσμα της λέξης ένοιωθα δέος παρά τα οκτώ μου χρόνια και μάλιστα θυμάμαι ότι είχα και τις αντιρρήσεις μου για το κατά πόσο αυτό είναι δυνατό να επιτευχθεί στην Ελλάδα. Ομολογουμένως, δεν θα περίμενα ποτέ ότι η απάντηση θα δινόταν εμπειρικά!

Αρκετά χρόνια μετά βρέθηκα στο Ρέθυμνο για σπουδές Ψυχολογίας. Ελάχιστοι μήνες παρουσίας μου στη σχολή ήταν αρκετοί για να με πείσουν για ένα πράγμα: ότι ήθελα να ασχοληθώ με την έρευνα! Η μαγεία της αναζήτησης του καινούργιου ήταν δεδομένο ότι θα με κέρδιζε ως προσωπικότητα, παρ' όλο που στα δεκαοκτώ μου μάλλον δεν μπορούσα να προσδιορίσω τι ακριβώς ήθελα να κάνω.

Αν και είναι γεγονός ότι ο τομέας των Νευροεπιστημών τον οποίο πραγματικά λατρεύω και τελικώς επέλεξα, ξεφεύγει από την εφαρμοσμένη Ψυχολογία, ωστόσο η επιλογή μου για να σπουδάσω στο Τμήμα Ψυχολογίας δεν ήταν καθόλου τυχαία. Έτσι, όντας σε ένα τμήμα που με ενδιέφεραν πολλές διαφορετικές «κατευθύνσεις» μέχρι και σήμερα πιστεύω ότι η επιλογή μου αυτή ήταν σε μεγάλο βαθμό προσωποκεντρική.

Ήμουν στο τρίτο έτος σπουδών όταν επέλεξα ως πρώτο σεμιναριακό μάθημα την «Κλινική Νευροεπιστήμη» την οποία μας δίδαξαν ο μελλοντικός επιβλέπων της Διδακτορικής Διατριβής μου και σήμερα Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοψυχολογίας κ. Γιώργος Παναγής και ο Αναπληρωτής Καθηγητής Ψυχοφυσιολογίας κ. Ανδρέας Καστελλάκης. Κάνοντας ωστόσο έναν αναστοχασμό, αυτό που αναφέρω ως προσωποκεντρική επιλογή τελικώς μπορεί και να αποτελεί οξύμωρο σχήμα για μένα, καθώς οφείλω να ομολογήσω ότι οποιαδήποτε αμφιβολία είχα τότε ως τριτοετής φοιτήτρια, είχε να κάνει με τη φήμη «αυστηρότητας» των καθηγητών μου.

Ως ψυχολόγος, θεωρώ εξαιρετικά σημαντική την επίδραση του πλαισίου στο σχηματισμό των γνωστικών σχημάτων μας. Η σεμιναριακή μου εργασία έπρεπε να είναι «συνεργατική» και για πολύ καλή μου τύχη συνεργάστηκα με την καλή μου φίλη Βαλσαμούλα Ρούμπη (Ψυχολόγος, MSc) με την οποία μοιράστηκα τις πρώτες ερευνητικές μελέτες σε επιστημονικά περιοδικά που διάβασα ως προπτυχιακή φοιτήτρια καθώς και αμέτρητες ώρες στον υπολογιστή έως ότου ολοκληρώσουμε την ενδελεχή ανασκόπησή μας για τη νευροβιολογία της σχιζοφρένειας. Η παρουσίαση της εργασίας μας έγινε στην αίθουσα συνεδριάσεων του Τμήματος και πιστεύω ότι ακόμα και σήμερα η αίθουσα αυτή συνεχίζει να αποτελεί συνεξαρτημένο ενισχυτικό ερέθισμα για μένα. Αν και ξέραμε ότι είχαμε ασχοληθεί πολύ με το θέμα μας, ομολογώ ότι καμία μας δεν περίμενε την αντίδραση του κ. Καστελλάκη και τα τόσο θετικά σχόλια του. Και φυσικά καθώς το σθένος της κοινωνικής επιβράβευσης έχει να κάνει με την πηγή από την οποία προέρχεται, για μένα δεν υπήρχε τίποτα καλύτερο από την επιβράβευση ενός ανθρώπου που έχεις πολύ «ψηλά»! Πραγματικά πιστεύω ότι ουσιαστικά κάπου εκεί ξεκίνησαν όλα. Μετά την καθ' όλα επιτυχή ολοκλήρωση αυτού του σεμιναριακού μαθήματος, ο κ. Παναγής μου πρότεινε να πάω στο Εργαστήριο Νευροεπιστημών & Συμπεριφοράς του Τμήματος αρχικά για να εκπαιδευτώ και να συμμετέχω στις δραστηριότητες του Εργαστηρίου και εφόσον με ενδιέφερε να πραγματοποιήσω εκεί την πτυχιακή μου εργασία. Φυσικά ενθουσιάστηκα. Έτσι το Μάρτιο του 2006 ξεκίνησα να εκπαιδεύομαι στο Εργαστήριο Νευροεπιστημών & Συμπεριφοράς του Τμήματος Ψυχολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Στα πεντέμισι χρόνια που ακολούθησαν, τέσσερα εκ των οποίων εκπονούσα τη Διδακτορική Διατριβή μου, το εργαστήριο αυτό συνέβαλε στην εξέλιξή μου σε πολλαπλά επίπεδα και ιδίως ανά περιόδους αποτέλεσε το πρώτο μου «σπίτι». Στο συχνά δύσκολο αυτό δρόμο πολλοί είναι οι άνθρωποι που με στήριξαν και θεωρώ ότι συνέβαλαν με ποικίλους τρόπους στην υλοποίηση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τον **επιβλέποντα καθηγητή μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Βιοψυχολογίας κ. Γιώργο Παναγή** πρώτα απ' όλα γιατί πίστεψε σε μένα και μου έδωσε την ευκαιρία να είμαι η πρώτη προπτυχιακή φοιτήτρια που εκπόνησε ερευνητική πτυχιακή εργασία στο εργαστήριο καθώς και για τη δυνατότητα που μου έδωσε στη συνέχεια να πραγματοποιήσω τη Διδακτορική Διατριβή μου υπό την επίβλεψη και καθοδήγησή του. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όλα τα ερεθίσματα και τα πρότυπα που μου

παρείχε, για την πολύ καλή συνεργασία και στήριξη που είχα όλα αυτά τα χρόνια και φυσικά για το γεγονός ότι ήταν πάντα παρών και πρόθυμος να συμβάλλει στη διευθέτηση όλων των επιστημονικών και πρακτικών ζητημάτων που ανέκυπταν. Θα ήθελα ακόμα να προσθέσω ότι η «προσωποκεντρική» επιλογή που προανέφερα καθώς και η αναφορά μου σε πρότυπα άπτεται του γεγονότος ότι είχα διαπιστώσει εξ αρχής ότι επρόκειτο για έναν άνθρωπο που πλην της κατάρτισής του, είχε μεγάλο ενδιαφέρον για συνεχή μάθηση και ποιοτική έρευνα, κάτι που εκλάμβανα όχι μόνο ως πρότυπο μόρφωσης αλλά και ως πρότυπο παιδείας. Θα ήθελα πραγματικά να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου γιατί θέλησε να μου μεταδώσει έναν τρόπο σκέψης που αναμφίβολα θεωρώ ότι συνέβαλε στην εξέλιξή μου. Σήμερα, πεντέμισι χρόνια μετά, έχοντας πλέον ολοκληρώσει την προπτυχιακή και μεταπτυχιακή μου εργασία καθώς και τη Διδακτορική Διατριβή μου υπό την επίβλεψή του νοιώθω μεγάλη ικανοποίηση για την επιλογή μου.

Τον **καθηγητή μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Ψυχοφυσιολογίας κ. Ανδρέα Καστελλάκη** κυρίως για το γεγονός ότι με έκανε να αγαπήσω τον τομέα των Νευροεπιστημών αλλά και για το πολύ αξιόλογο πρότυπο ανθρώπου που μου παρείχε. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όλα όσα μου δίδαξε, για την πάντοτε άμεση ανταπόκρισή του, για την υποστήριξή του αλλά και για τις συμβουλές και προτάσεις του. Τέλος, θέλω να τον ευχαριστήσω για το αδιάκοπο ενδιαφέρον με το οποίο παρακολούθησε όλη την πορεία εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας διατριβής αλλά και για την ουσιαστική βοήθειά του σε μεθοδολογικά ζητήματα.

Την καθηγήτριά μου στο ΠΜΣ Νευροεπιστημών, **Καθηγήτρια Φαρμακολογίας κ. Κυριακή Θερού** που ήταν και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής της παρούσας Διατριβής. Την ευχαριστώ για τα σημαντικά ερεθίσματα που μου έδωσε στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών μαθημάτων, καθώς συνέβαλλαν ουσιαστικά στην ανάπτυξη των ιδεών μου αλλά και στην εξέλιξη των πειραμάτων της Διατριβής μου. Επιπλέον, την ευχαριστώ για τον ουσιαστικό συμβουλευτικό ρόλο που είχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της Διατριβής μου αλλά για την πολύπλευρη βοήθειά της όπου και όταν τη χρειάστηκα.

Πλην των μελών της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, την **Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας-Αναπτυξιακής Νευροβιολογίας κ. Δόμνα Καραγωγέως**, τον **Καθηγητή Εξελικτικής Νευροψυχολογίας κ. Παναγιώτη Σίμο**, τον **Επίκουρο Καθηγητή Ψυχιατρικής κ. Παναγιώτη Μπίτσιο** και το **Λέκτορα**

Φαρμακολογίας κ. Ιωάννη Χαραλαμπόπουλο που δέχθηκαν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή και να συμβάλουν στην τελική διαμόρφωση του κειμένου με σχόλια-παρατηρήσεις.

Τον **Dr. Γιώργο Νομικό, Ανώτερο Επιστημονικό Διευθυντή Νευροεπιστημών της εταιρείας Astellas Pharmaceutical Global Development** για τις πολύτιμες προτάσεις, παρατηρήσεις και τη συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια καθώς και για την παρότρυνσή του να πραγματοποιήσω ένα μέρος των πειραμάτων της Διατριβής αυτής στο Karolinska Institute.

Τον **Dr. Per Svenningsson** (Associate Professor, Center for Molecular Medicine, Section of Translational Neuropharmacology, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden) που μου έδωσε την ευκαιρία να εργαστώ σ' ένα καταξιωμένο εργαστήριο μελέτης ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερος για τη δυνατότητα που μου παρείχε να πραγματοποιήσω όλες τις μοριακές μελέτες της παρούσας Διατριβής στο εργαστήριό του και για την επίβλεψη και καθοδήγησή του όλο αυτό το διάστημα. Αναμφίβολα, δεν υπάρχει καλύτερη λέξη για να χαρακτηρίσω την παραμονή και την εργασία μου εκεί από την λέξη εμπειρία! Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη **μεταδιδακτορική ερευνήτρια Nicoletta Schintu** για την βοήθειά της στη λήψη δειγμάτων για τις μελέτες ανοσοαποτύπωσης.

Το **Κοινωνικό Ίδρυμα Υποτροφιών Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης** το οποίο με υποστήριξε οικονομικά για τα ακαδημαϊκά έτη 2009-2010 και 2010-2011. Πλην των ευχαριστιών μου θα ήθελα επιπροσθέτως να εκφράσω και την ικανοποίησή μου ως μέλος του Συνδέσμου Υποτρόφων Ιδρύματος Ωνάση για τις συνεχείς πρωτοβουλίες της Στέγης Γραμμάτων και Τεχνών για την προαγωγή της παιδείας στη χώρα μας.

Την **Επίκουρο Καθηγήτρια Κλινικής Ψυχολογίας κ. Σοφία Τριλίβα** για τη φροντίδα των πειραματοζώων του Εργαστηρίου μας κατά την απουσία μας σε περιόδους γιορτών.

Τη **Λέκτορα Ψυχολογίας στο Dublin City University Στέλλα Βλάχου**, καθώς υπήρξε η πρώτη μου «δασκάλα» στο εργαστήριο Νευροεπιστημών & Συμπεριφοράς. Η συμβολή της στην προσαρμογή μου ήταν σημαντική καθώς διαπίστωσα ότι μοιραζόμασταν τόσο την αγάπη μας για τα ζώα όσο και τις αντιλήψεις περί μηχανισμών άμυνας. Ακόμα την ευχαριστώ γιατί ήταν πάντα πρόθυμη να μοιραστεί την εμπειρία της μαζί μου και να μου παρέχει συμβουλές. Στον πρώτο χρόνο μου στο εργαστήριο, σημαντική συμβολή στην εκπαίδευσή μου είχε και η **Ειρήνη Μαρκάκη**, βιολόγος, η οποία με εκπαίδευσε στη στερεοταξική χειρουργική

και στο μοντέλο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, για τα οποία και την ευχαριστώ πολύ.

Τη φίλη και συνάδελφο **Βίκυ Κατσιδώνη**, μεταπτυχιακή φοιτήτρια του ΠΜΣ στις Νευροεπιστήμες, η οποία υπήρξε «συγκάτοικος» μου στο εργαστήριο και στα τέσσερα χρόνια της διατριβής μου. Την ευχαριστώ τόσο για την συμβολή της στη διευθέτηση πρακτικών και μη ζητημάτων εντός εργαστηρίου όσο και για τα εκτός εργαστηρίου απαραίτητα ρακο-διαλείμματα, ιδίως στο δύσκολο για μένα διάστημα συγγραφής της Διατριβής.

Την επίσης καλή μου φίλη **Κάλλια Απαζόγλου**, λίαν συντόμως μεταδιδακτορική ερευνήτρια και πρώην συγκάτοικο μου στο εργαστήριο με την οποία μοιραστήκαμε αρκετές σημαντικές εμπειρίες. Ακόμα, τους φίλους **Χρύσα Ζουραράκη, Στέφανο Φώκο, Ζήση Μπιμπισίδη, Ηλέκτρα Αναγνώστου** που πέρασαν από το εργαστήριο στο πλαίσιο των προπτυχιακών ή μεταπτυχιακών τους σπουδών αλλά και αυτούς που δεν πέρασαν αλλά μοιραστήκαμε διάφορα στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών μας σπουδών. Ιδιαίτερα, θέλω να ευχαριστήσω τη φίλη μου από το μεταπτυχιακό, βιολόγο **Μαρία Ψαρρού** για τη διαδικτυακή ψυχολογική στήριξη στις ατέλειωτες ώρες που πέρασα στον υπολογιστή κατά τη συγγραφή της Διατριβής μου.

Τους φίλους μου στο Karolinska Institute και συγκεκριμένα τον καλό μου φίλο και συνάδελφο (Western blot person), **Tiberiu Stan** (PhD student), με τον οποίο μοιραστήκαμε πολλά φιλήματα και ανέκδοτα για την «αγνοούμενη» τρίτη και specific «μπάντα» της phospho-NR2B, η οποία φυσικά για καλή μου τύχη πλέον δεν αγνοείται! Αλλά και τον επίσης πολύ καλό φίλο **Saurav Shrestha** (PhD student στο NIH/Karolinska) για την ενσυναίσθηση και τη μετάδοση θετικής σκέψης (Saurav, no problem!). Ακόμα θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς την **Nada Nokto**, την **Sania** και την οικογένειά τους, καθώς μου φέρθηκαν σαν οικογένεια μου κατά την διαμονή μου στη Στοκχόλμη καθώς και την φίλη και μεταδιδακτορική ερευνήτρια στο Karolinska **Μαριτίνα Σεργάκη** για την θερμή φιλοξενία.

Τη **Μαρία Σαββάκη** από την οποία παρακολούθησα για πρώτη φορά τη διαδικασία της ανοσοαποτύπωσης, παρ' όλο που τότε μου φαινόταν μια μάλλον δύσκολη διαδικασία. Για την ευκαιρία αυτή που μου δόθηκε θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και την **Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας-Αναπτυξιακής Νευροβιολογίας κ. Δόμνα Καραγωγέως** καθώς στο πλαίσιο της πρακτικής μου άσκησης στο εργαστήριό της ήρθα σε πρώτη επαφή με τεχνικές μοριακής βιολογίας.

Τη **Διευθύντρια του Εργαστηρίου Κλινικής Φαρμακολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου, Καθηγήτρια Φαρμακολογίας κ. Κυριακή Θερμού** καθώς και την **τεχνολόγο του Εργαστηρίου κ. Ιωάννα Πρινάρη** για την βοήθειά τους στη μέτρηση των επιπέδων λιθίου και βαλπροϊκού οξέος στο πλάσμα.

Το προσωπικό της **Τεχνικής Υπηρεσίας του Πανεπιστημίου Κρήτης στο Ρέθυμνο**, καθώς υπήρξαν εξαιρετικοί γείτονες και άνθρωποι, όντας πάντα φιλικοί και πρόθυμοι να βοηθήσουν σε οποιοδήποτε πρακτικό ζήτημα προέκυπτε. Επιπλέον, τους ευχαριστώ θερμά αλλά και να τους συγχαίρω για όλα τα προϊόντα παραγωγής τους που ανά καιρούς δοκίμασα!

Το **Γιώργο Κανδύλη, Ε.Τ.Ε.Π. του Τμήματος Ψυχολογίας** για τη συμβολή του στη διευθέτηση πρακτικών ζητημάτων του εργαστηρίου καθώς και τον **Αλέξη Μπράιλα** για τη σημαντική βοήθειά του στην ρύθμιση των αυτόματων κλωβών καταγραφής της συμπεριφοράς ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και τη δημιουργία των προγραμμάτων μεταβαλλόμενων συχνοτήτων.

Τις γραμματείες του Τμήματος Ψυχολογίας **κ. Ναταλία Χρονοπούλου, κ. Μαριάννα Κουγιτάκη και κ. Χρυσούλα Κουταλά** για τη διευθέτηση διαδικαστικών ζητημάτων από τα προπτυχιακά μου έτη μέχρι και σήμερα.

Τον ξάδελφο μου **Παναγιώτη Ρουπακιώτη** που ουκ ολίγες φορές διευθέτησε τις εκτυπώσεις των αναρτημένων ανακοινώσεών μας για συνέδρια.

Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους ανθρώπους μου στάθηκαν όλα αυτά τα χρόνια και ιδίως τους πολύ καλούς μου φίλους **Βαλσαμούλα Ρούμπη, Ντενίζ Σαρρη-Χασάν, Γιώργο Σταυρούλη, Κική Τσέτσερη** και την «αδελφή» μου **Χριστίνα Κοντονικολάου**.

Αν και τελευταία σε αναφορά, ωστόσο αναμφίβολα πρώτη στην καρδιά μου, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τους γονείς μου **Μιχάλη και Νίκη Μαυρικάκη**, τον αδελφό και φίλο **Αγαπητό Μαυρικάκη** και την αδελφή και φίλη **Βασιλική Μαυρικάκη** για την αμέριστη αγάπη, κατανόηση και συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Ρέθυμνο, Οκτώβριος 2011

B. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Γενικά χαρακτηριστικά-Συμπτωματολογία της Διπολικής Διαταραχής. Σύμφωνα με την αναθεωρημένη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου για τις Ψυχικές Διαταραχές-IV (DSM-IV-TR)¹, η Διπολική Διαταραχή (ΔΔ) ή «μανιο-καταθλιπτική νόσος»² είναι μια «κυκλική» ή αλλιώς «περιοδική» διαταραχή που χαρακτηρίζεται από τουλάχιστον ένα μανιακό ή μεικτό-μανιακό επεισόδιο κατά τη διάρκεια της ζωής του ασθενούς, ενώ σε άλλη χρονική στιγμή, εκδηλώνεται ένα ή περισσότερα καταθλιπτικά επεισόδια. Χαρακτηριστικό επίσης είναι το γεγονός ότι οι περισσότεροι ασθενείς μεταξύ των επεισοδίων αυτών επανέρχονται σε μια φυσιολογική κατάσταση λειτουργικότητας (American Psychiatric Association, 2000). Πρόκειται για μια σοβαρή νευροψυχιατρική διαταραχή του συναισθήματος όπου οι εναλλαγές στη διάθεση προοδευτικά αυξάνουν σε συχνότητα και σοβαρότητα (Belmaker, 2004).

Ο ορισμός της νοσολογίας του μανιακού επεισοδίου έχει αλλάξει με το πέρασμα του χρόνου και στο DMSM-IV-TR ο όρος υπομανιακό επεισόδιο διαχωρίζεται από το πλήρες μανιακό επεισόδιο (American Psychiatric Association, 2000). Το μανιακό επεισόδιο μπορεί να χαρακτηριστεί ως ήπιο, μέτριο ή σοβαρό ή ακόμα με σοβαρά ψυχωσικά χαρακτηριστικά (Gould & Einat, 2007; American Psychiatric Association, 2000). Παρ' όλα αυτά, στον όρο μανία συμπεριλαμβάνονται τα ακόλουθα τρία στάδια: υπομανία, μανία, και η παραληρηματική μανία (American Psychiatric Association, 2000).

Στην κύρια συμπτωματολογία της μανίας περιλαμβάνεται το ανυψωμένο συναίσθημα (είτε ευφορία, είτε ευερεθιστότητα), η ακατάπαυστη ροή ιδεών και πίεση λόγου, η αυξημένη ενέργεια, η μειωμένη ανάγκη για ύπνο καθώς και η υπερδραστηριότητα (Βλ. ΠΙΝΑΚΑΣ Ε1). Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι εμφανή στην υπομανία ενώ κατά το οξύ μανιακό επεισόδιο τα συμπτώματα επιδεινώνονται και μπορεί να συνοδεύονται από ψευδαισθήσεις, παραληρητικές ιδέες και κατακερματισμό συμπεριφοράς. Χαρακτηριστικό επίσης της μανιακής φάσης είναι η αυξημένη αυτοεκτίμηση και αυτοπεποίθηση που βιώνουν οι ασθενείς ακόμα και κατά

¹ Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders-IV, DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000). Το αναθεωρημένο DSM-V αναμένεται να κυκλοφορήσει το Μάιο του 2013.

² Σύμφωνα με το DSM-IV-TR ο όρος «μανιο-καταθλιπτική νόσος» είναι αποδεκτός στις Η.Π.Α.

το στάδιο της υπομανίας, ενώ λόγω της αυξημένης παρορμητικότητας που παρουσιάζουν, συχνά ξοδεύουν χρήματα με αμέλεια, εμφανίζουν αυξημένη σεξουαλική διάθεση και χρήση εξαρτησιογόνων ουσιών η οποία παρατηρείται τουλάχιστον στον ήδη εθισμένο υπο-πληθυσμό των διπολικών ασθενών. Τα μανιακά επεισόδια μπορεί να έχουν διάρκεια ακόμα και μερικών μηνών αν δεν αντιμετωπιστούν θεραπευτικά.

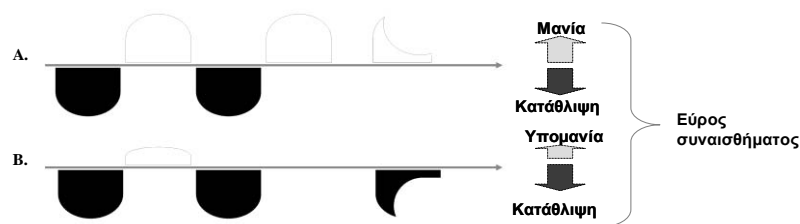
Στον αντίποδα, κατά τη διάρκεια των καταθλιπτικών επεισοδίων, οι ασθενείς μπορεί να έχουν έντονα αισθήματα αβοήθητου, να αισθάνονται ανάξιοι και να έχουν αυτοκτονικές τάσεις (Tsai et all, 2011). Τα καταθλιπτικά επεισόδια των διπολικών ασθενών δεν διαφέρουν από αυτά των ασθενών με μείζονα κατάθλιψη. Τα επεισόδια αυτά χαρακτηρίζονται από ψυχοκινητική επιβράδυνση, υπερφαγία και υπερβολική υπνηλία ενώ συχνά παρατηρούνται και ψευδαισθήσεις ή/και παραληρητικές ιδέες. Αν δεν αντιμετωπιστούν θεραπευτικά, τα καταθλιπτικά επεισόδια διαρκούν κατά μέσο όρο έξι μήνες (American Psychiatric Association, 2000).

Τα μεικτά-μανιακά επεισόδια δεν είναι τόσο συχνά όσο τα μανιακά ή τα καταθλιπτικά επεισόδια. Κατά την διάρκεια των επεισοδίων αυτών παρατηρούνται ποικίλες αναμειξίες μανιακών και καταθλιπτικών συμπτωμάτων τα οποία χρονικά μπορεί να παρουσιάζονται είτε έχοντας αλληλουχία είτε παράλληλα. Για παράδειγμα, ασθενείς με έντονο συναίσθημα ευφορίας, υπερδραστηριότητα και πίεση λόγου μπορεί ξαφνικά να παρουσιάσουν απελπισία ακολουθούμενη από κλάμα αλλά να επιστρέψουν ξανά στην κατάσταση έξαρσης μέσα σε λίγες ώρες. Ωστόσο, η διάρκεια ενός τέτοιου επεισοδίου είναι μεγαλύτερη από αυτήν του μανιακού ή του καταθλιπτικού επεισοδίου (American Psychiatric Association, 2000).

Η αλληλουχία και το μοτίβο εναλλαγής επεισοδίων μεταξύ των ασθενών ποικίλει. Η διάρκεια των ενδιάμεσων διαστημάτων μπορεί να είναι από λίγες ημέρες, εβδομάδες, μήνες, χρόνια ή ακόμα

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε1.	
Εξέχουσα συμπτωματολογία μανίας με βάση το DSM-IV-TR	
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	
Ανυψωμένο συναίσθημα (είτε <i>ευφορία</i> είτε ευερεθιστότητα)	
Ακατάπαυστη ροή ιδεών	
Πίεση λόγου	
Αυξημένη ενέργεια	
Μειωμένη ανάγκη για ύπνο	
Υπερδραστηριότητα.	
Ψευδαισθήσεις	
Παραληρητικές ιδέες	
Κατακερματισμός συμπεριφοράς	

και δεκαετίες. Ασθενείς που παρουσιάζουν τουλάχιστον τέσσερα επεισόδια εντός ενός έτους θεωρείται ότι πλήττονται από ταχείες κυκλικές εναλλαγές. Το ποσοστό αυτών των ασθενών ανέρχεται στο 10% των διπολικών ασθενών και συνήθως δεν ανταποκρίνεται θετικά στις υπάρχουσες φαρμακοθεραπείες. Επιπροσθέτως, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η αλληλουχία των επεισοδίων δεν είναι εναλλασσόμενη μεταξύ μανιακών και καταθλιπτικών επεισοδίων αλλά συνήθως ο εκάστοτε ασθενής χαρακτηρίζεται είτε από προεξέχοντα μανιακά είτε από προεξέχοντα καταθλιπτικά επεισόδια. Ασθενείς των οποίων η συμπτωματολογία περνάει από το στάδιο υπομανίας στο στάδιο της μανίας κατά τη μανιακή φάση χαρακτηρίζονται ως ασθενείς με ΔΔ τύπου I, ενώ οι ασθενείς που χαρακτηρίζονται κυρίως από καταθλιπτικά επεισόδια και τουλάχιστον ένα υπομανιακό επεισόδιο συγκαταλέγονται στους ασθενείς με ΔΔ τύπου II (American Psychiatric Association, 2000).



ΣΧΗΜΑ Ε1. Διακύμανση συναισθήματος μεταξύ των τύπων της ΔΔ. Η ΔΔ χαρακτηρίζεται από επεισόδια που κινούνται μεταξύ δύο πόλων όπου το συναίσθημα μπορεί είναι είτε υπερβολικά «ανυψωμένο» (λευκό, μανιακό επεισόδιο) είτε κατασταλμένο (μαύρο, καταθλιπτικό επεισόδιο) είτε να χαρακτηρίζεται από απότομες εναλλαγές μεταξύ των δύο άκρων (μεικτά-μανιακά επεισόδια). Στη ΔΔ τύπου I ο ασθενής έχει ένα ή περισσότερα μανιακά ή μεικτά επεισόδια ενώ παρουσιάζει και τουλάχιστον ένα ή περισσότερα καταθλιπτικά επεισόδια (Α). Στη ΔΔ τύπου II ο ασθενής έχει τουλάχιστον ένα υπομανιακό επεισόδιο ενώ παρουσιάζει μείζονα καταθλιπτικά επεισόδια (American Psychiatric Association, 2000).

Το 1919, ο Emil Kraepelin, περιέγραψε και διαχώρισε την μανιο-καταθλιπτική νόσο από τη σχιζοφρένεια, δημιουργώντας την λεγόμενη Kraepelianian (Κραιπελιανή) διάκριση. Ωστόσο, σήμερα γνωρίζουμε ότι πολλά άτομα με σοβαρή ψυχιατρική διαταραχή παρουσιάζουν ως κυρίαρχα τόσο συναισθηματικά όσο και ψυχωσικά συμπτώματα. Αυτό καθιστά δυσδιάκριτα τα όρια μεταξύ των δύο

διαταραχών, υποδηλώνοντας έλλειψη αδρών διαφορών ως προς το βιολογικό τους υπόστρωμα και θέτοντας υπό αμφισβήτηση την ύπαρξη της Kraepelinian (Κραιπελιανής) διάκρισης. Όπως θα δούμε στη συνέχεια, και η γενετική επιδημιολογία υποδεικνύει ότι ΔΔ και σχιζοφρένεια, έστω εν μέρει, αλληλεπικαλύπτονται (Craddock & Owen, 2005). Έτσι, σήμερα, η εν λόγω διάκριση δε μπορεί να θεωρηθεί ούτε απόλυτα σωστή αλλά ούτε πλήρως λανθασμένη (McDonald et al., 2004).

Παρ' όλο που η ΔΔ παγκοσμίως αποτελεί την έκτη αιτία ανικανότητας (Strakowski et al., 2005), η ακριβής αιτιολογία και παθοφυσιολογία της παραμένει άγνωστη (Mahon et al., 2010· Newberg et al., 2008). Πλήττει με την ίδια συχνότητα άντρες και γυναίκες και η συχνότητα εμφάνισής της υπολογίζεται σε 1.3-1.6% (American Psychiatric Association, 2000). Συνήθως πρωτοεμφανίζεται στην τελευταία φάση της εφηβείας ή στα πρώτα στάδια της ενήλικης ζωής (Tsai et al., 2011), ενώ η πρώιμη έναρξη της υπολογίζεται στην ηλικία των δέκα ετών (American Psychiatric Association, 2000).

Επιπροσθέτως, επηρεάζει πολλές πτυχές της ζωής του ασθενούς συμπεριλαμβανομένης της σωματικής υγείας ενώ πολύ συχνά συνυπάρχει με άλλες ψυχιατρικές διαταραχές όπως η κατάχρηση ουσιών, οι αγχώδεις διαταραχές, οι διαταραχές λήψης και οι διαταραχές της προσωπικότητας (Deer-Soboslay, 2008· Gould & Einat, 2007). Τα υψηλά ποσοστά συννοσηρότητας, σε συνδυασμό με το μεγάλο ποσοστό αυτοκτονιών³, την περιορισμένη κοινωνική και οικονομική λειτουργικότητα καθώς και τη «φτώχη» ανάρρωση μεταξύ των επεισοδίων αυξάνουν τα ποσοστά θνησιμότητας εντός του πληθυσμού αυτού (Gould & Einat, 2007).

2. Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία ΔΔ. Μέχρι και πρόσφατα πολύ λίγα ήταν γνωστά αναφορικά με την αιτιολογία ΔΔ (Du et al., 2004). Αξίζει να αναφέρουμε ότι η φαινοτυπική ετερογένεια αποτελούσε και αποτελεί τροχοπέδη στην προσπάθεια διαλεύκανσης της νευροβιολογίας και του ευρύτερου βιολογικού υποστρώματός της (Hasler et al., 2006). Ωστόσο, λόγω της εξέλιξης των τεχνικών μελέτης του γονιδιώματος, ο κατάλογος των γονιδίων που φέρουν κίνδυνο για την εκδήλωση της διαταραχής έχει αυξηθεί σημαντικά δίνοντάς μας μια πρωτοφανή ευκαιρία κατανόησης της παθοφυσιολογίας της. Παρ' όλα αυτά, τα γενετικά αυτά ευρήματα

³ που προσεγγίζει το 15% των ασθενών

συμπορεύονται με ανεπίλυτα ζητήματα συμπεριλαμβανομένων του απροσδιόριστου βαθμού στον οποίο ένας πολυμορφισμός σχετιζόμενος με αυξημένο κίνδυνο μπορεί να οδηγήσει σε ένα δυσλειτουργικό γονίδιο και αν και πώς αυτός ο γενετικός κίνδυνος οδηγεί σε συμπεριφορικές διαταραχές (Chen et al., 2010).

Όλα τα δεδομένα συνηγορούν στο ότι πρόκειται για μία πολυγονιδιακή νόσο, η οποία εμφανίζεται μόνο όταν κληρονομούνται πολλαπλοί πολυμορφισμοί γονιδίων που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο (Chen et al., 2010· American Psychiatric Association, 2000· Βλ. ΠΙΝΑΚΑ Ε2). Στα άτομα με γενετική προδιάθεση, σωματικοί και ψυχοκοινωνικοί στρεσογόνοι παράγοντες μπορούν να αποτελέσουν το έρεισμα συναισθηματικών επεισοδίων και να διευκολύνουν την ανάπτυξη της διαταραχής. Τέτοια επεισόδια μπορούν επίσης να επαχθούν από ψυχοδιεγερτικά, από εξάντληση αποθεμάτων μονοαμινών και γλυκοκορτικοστεροειδών (Chen et al., 2010).

2.1. Γενετική βάση ΔΔ. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης υποδεικνύουν ότι η συχνότητα εμφάνισης ΔΔ σε συγγενείς πρώτου βαθμού διπολικών ασθενών είναι δέκα φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (Deer-Soboslay et al., 2008). Σε μονοζυγωτικούς διδύμους έχειδειχθεί ότι η πιθανότητα σύμπτωσης ανέρχεται σε 40% με βάση τον αυστηρό ορισμό της ΔΔ έως 97% αναφορικά με το φάσμα της διαταραχής, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για τους διζυγωτικούς διδύμους ανέρχονται σε 5-38% (Hasler et al., 2006). Επιπρόσθετα, μελέτες υιοθεσίας υποδηλώνουν αυξημένα ποσοστά σύμπτωσης με τους βιολογικούς γονείς (American Psychiatric Association, 2000), υποδηλώνοντας ισχυρό γενετικό υπόστρωμα της διαταραχής (Hankin, 2009· Løvlie et al., 2003· American Psychiatric Association, 2000).

Μέρος των γενετικών μελετών σύνδεσης δείχνουν ότι η γενετική ευαισθησία αλληλεπικαλύπτεται με αυτή της σχιζοφρένειας (The Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007). Συγκεκριμένα, μελέτες συσχέτισης σχετίζουν και στις δύο διαταραχές με πολυμορφισμούς στα γονίδια *DAOA* (D-amino Acid Oxidase Activator, ενεργοποιητής οξειδάσης D-αμινοξέων), το *DISC1* (Disrupted In Schizophrenia 1, διαταραγμένο στη σχιζοφρένεια 1), το *NRG1* (neuregulin 1) και το *DTNBP1* (dystrobrevin binding protein 1) (Craddock & Owen, 2005).

Σε συσχετιστική μελέτη εύρους γονιδιώματος που πραγματοποιήθηκε από την Κοινοπραξία Ελέγχου Περιπτώσεων Wellcome Trust (The Wellcome Trust Case

Control Consortium, WTCCC) σε 1.868 ασθενείς με ΔΔ και 2.938 μάρτυρες, εντοπίστηκε ένας τύπος σε περιοχή πλούσια σε γονίδια στην χρωμόσωμική περιοχή 16p12. Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για τον πολυμορφισμό ενός απλού νουκλεοτιδίου (single-nucleotide polymorphism ή αλλιώς SNP) rs420259 (The Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007).

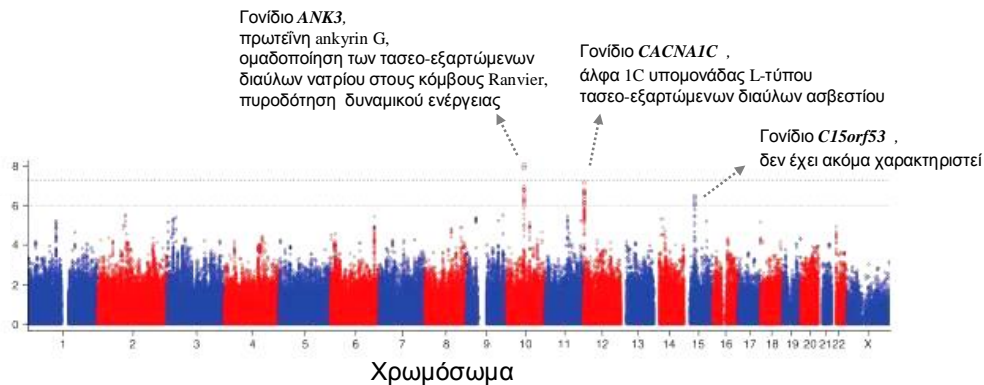
Στη μεγαλύτερη πρόσφατη συσχετιστική μελέτη εύρους γονιδιώματος που πραγματοποιήθηκε για τη ΔΔ, όπου ελέγχθηκαν 1.8 εκατομμύρια πολυμορφισμοί γονιδίων σε μεγάλο δείγμα διπολικών ασθενών (4.387) και αντίστοιχης ομάδας ελέγχου (6.209) αναφέρθηκε ότι η ισχυρότερη συσχέτιση υπάρχει με το γονίδιο *ANKK3* (ankyrin G, αγκυρίνη G⁴) στην χρωμόσωμική περιοχή 10q21 για το οποίο ευθύνεται ο SNP rs10994336 (βλ. ΣΧΗΜΑ E2, Ferreira et al., 2008). Πρόσφατες έρευνες μάλιστα φαίνεται ότι συσχετίζουν τον πολυμορφισμό αυτό με ροπή προς ανηδονία στον υγιή πλυθυσμό (Roussos et al., 2011). Ένα δεύτερο γονίδιο που συσχετίστηκε με τη νόσο, για το οποίο μάλιστα υπάρχουν και προγενέστερες αναφορές (Sklar et al., 2002), είναι το *CACNA1C* (alpha 1C subunit of the L-type voltage-gated calcium channel, άλφα 1C υπομονάδα L-τύπου τασεο-εξαρτώμενων διαύλων ασβεστίου) και συγκεκριμένα στο τρίτο ιντρόνιό του που εντοπίζεται στη χρωμόσωμική περιοχή 12p13 και το SNP rs1006737. Η τρίτη ισχυρότερη συσχέτιση βρέθηκε με το γονίδιο *C15orf53* της 15q14 χρωμόσωμικής περιοχής και συγκεκριμένα το εμπλεκόμενο SNP είναι το rs12899449. Με βάση αυτά τα ευρήματα, η ΔΔ φαίνεται να συμπεριλαμβάνεται στις διαταραχές όπου πλήττονται οι ιοντικοί διάλυοι (διαυλοπάθειες⁵), ενοχοποιώντας τις διαταραχές των ιοντικών διαύλων και σε επεισοδιακές διακυμάνσεις της διάθεσης και της συμπεριφοράς (Ferreira et al., 2008).

Σε μια άλλη σύγχρονη αντίστοιχη συσχετιστική μελέτη εύρους γονιδιώματος, όπου μελετήθηκαν 550.000 πολυμορφισμοί γονιδίων σε 1.233 διπολικούς ασθενείς και 1.439 υγιή άτομα ως ομάδα ελέγχου, η ισχυρότερη συσχέτιση βρέθηκε σε ένα

⁴ Στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) η πρωτεΐνη ankyrin-G εντοπίζεται στη νευρομυϊκή σύναψη και τους κόμβους Ranvier. Στους κόμβους Ranvier όπου έχουμε την αναγέννηση του δυναμικού ενέργειας, η ankyrin-G πιστεύεται ότι λειτουργεί ως ενδιάμεση πρωτεΐνη πρόσδεσης στη neurofascin και τους τασεο-ελεγχόμενους διαύλους νατρίου. Εμπλέκεται στην ομαδοποίηση των τασεο-ελεγχόμενων διαύλων νατρίου στον εκφυτικό κώνο και την πυροδότηση του δυναμικού ενέργειας

⁵ Οι διαυλοπάθειες είναι γνωστό ότι αποτελούν αιτία εμφάνισης επιληπτικών κρίσεων αλλά και επεισοδίων αταξίας και παράλυσης

δείκτη (marker) εντός του πρώτου ιντρονίου του γονιδίου *DGKH*, το οποίο κωδικεύει την ήτα κινάση της διακυλογλυκερόλης (diacylglycerol kinsase eta), που όπως θα δούμε και στη συνέχεια αποτελεί μια πρωτεΐνη κλειδί για το ευαίσθητο στις δράσεις του λιθίου μονοπατιού της φωσφοϊνοσιτόλης (Baum et al., 2008).



ΣΧΗΜΑ Ε2. Η μεγαλύτερη συσχετιστική μελέτη εύρους γονιδιώματος (Genome-wide association study, GWAS⁶) που έχει πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα για τη μελέτη του γενετικού υποστρώματος της ΔΔ. Η μελέτη, στην οποία εξετάστηκαν 1.8 εκατομμύρια πολυμορφισμοί γονιδίων πραγματοποιήθηκε σε 4.387 ασθενείς με ΔΔ και 6.209 υγιή άτομα ως ομάδα ελέγχου. Η μελέτη αυτή ανέδειξε για τη ΔΔ τρεις ισχυρές συσχετίσεις πολυμορφισμών που εντοπίζονται στα γονίδια *ANK3*, *CACNA1C* και *C15orf53* (Ferreira et al., 2008).

Προγενέστερες συσχετιστικές μελέτες, είχαν ενοχοποιήσει και πολυμορφισμούς στο γονίδιο του *BDNF* (Brain Derived Neurotrophic Factor) το οποίο εντοπίζεται στη χρωμόσωμική περιοχή 11p13-15 (Sklar et al., 2002). Τέλος, παλαιότερα είχαν βρεθεί επιπρόσθετοι δείκτες στα χρωμοσώματα 4 (Blackwood et al., 1996), 16, 18 (McMahon et al., 1997· Stine et al., 1995· Berrettini et al., 1994), 21 (Blackwood et al., 1996) αλλά και στην ψευδοαυτοσωμική περιοχή 1 (pseudautosomal region 1, PAR1) στις χρωμοσωμικές περιοχές Xp22.3/Yp11.3 (Flaquer et al., 2010).

⁶ Μελέτη γενετικής επιδημιολογίας η οποία ονομάζεται και συσχετιστική μελέτη ολόκληρου του γονιδιώματος καθώς πρόκειται για μια εξέταση όλων ή των περισσότερων γονιδίων (γονιδίωμα) διαφορετικών υποκειμένων συγκεκριμένων πληθυσμών με σκοπό τη διαπίστωση ενδεχόμενων διακυμάνσεων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στον άνθρωπο ελέγχονται εκατοντάδες ή χιλιάδες υποκείμενα για τον εντοπισμό συνήθως πολυμορφισμών ενός απλού νουκλεοτιδίου (single-nucleotide polymorphisms ή αλλιώς SNPs)

Καθώς οι γενετικές μελέτες σε διπολικούς ασθενείς έχουν φυσικά μόνο επιδημιολογικό και συσχετιστικό χαρακτήρα και δεν μπορούν να αποκαλύψουν αιτιώδεις σχέσεις, τα γενετικά μοντέλα σε πειραματόζωα μπορούν να αποτελέσουν ένα χρήσιμο «εργαλείο» στην προσπάθεια κατανόησης της συμβολής του εκάστοτε προτεινόμενου, ως εμπλεκόμενου, γονιδίου στο συμπεριφορικό φαινότυπο. Σε τέτοια γενετικά μοντέλα ζώων, τα οποία δημιουργούνται μέσω κυρίως της απαλοιφής (knock out, k.o.⁷) του υπό μελέτη γονιδίου, τα πλέον υποσχόμενα γονίδια που έχουν συσχετιστεί με αυξημένη συμπεριφορική διέγερση είναι τα γονίδια *CLOCK* (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput)⁸ (Coque et al., 2011· Mukherjee et al., 2010· Roybal et al., 2007), το γονίδιο που κωδικεύει την κινάση της συνθάσης-3 του γλυκογόνου (Glycogen Synthase Kinase-3, GSK-3), το γονίδιο που κωδικεύει τον υποδοχέα του γλουταμινικού δ⁹, το γονίδιο που κωδικεύει την ρυθμιζόμενη από εξωκυττάριο σήμα κινάση-1 (extracellular signal-regulated kinase-1, ERK1), το *SI00A10* που κωδικεύει την πρωτεΐνη p11¹⁰, το γονίδιο *SLC18A2* που κωδικεύει τον κυστιδικό μεταφορέα μονοαμινών 2 (vesicular monoamine transporter 2, VMAT2)¹¹, το γονίδιο που κωδικεύει υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών, το γονίδιο *BAG1* (Bcl-2-associated athanogene-1)¹² και το γονίδιο *POLG*¹³ που κωδικεύει την μιτοχονδριακή πολυμεράση-γ του DNA (DeoxyriboNucleic Acid, δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ) (Chen et al., 2010).

⁷ Η απαλοιφή ενός γονιδίου μπορεί να είναι ολική (complete k.o.) για όλο τον οργανισμό και εκ γενετής ή εξαρτημένη (conditional k.o.) με δυνατότητα απαλοιφής σε κατ' επιλογή χρόνο (στη διάρκεια ζωής του οργανισμού, συνήθως του μυ/ποντικίου) ή ακόμα να εντοπίζεται σε συγκεκριμένη εγκεφαλική περιοχή

⁸ Γονίδιο που κωδικεύει τον μεταγραφικό παράγοντα CLOCK ο οποίος ρυθμίζει τη διατήρηση και την περίοδο των κερκαδιανών ρυθμών

⁹ Έναν από τους υποδοχείς καϊνικού

¹⁰ Η πρωτεΐνη p11 έχει συνδεθεί με την μεταφορά νευροδιαβιβαστών. Λόγω της αλληλεπίδρασής της με πρωτεΐνες των σεροτονινεργικών οδών και της συσχέτισής της με τη συμπτωματολογία των διαταραχών του συναισθήματος, η σύγχρονη έρευνα μελετά την p11 ως νέο ενδεχόμενο στόχο ανάπτυξης φαρμακοθεραπειών

¹¹ Ο κυστιδικός μεταφορέας μονοαμινών μεταφέρει τις μονοαμίνες από το κυτοσόλιο στα συναπτικά κυστίδια

¹² Σχετίζεται με αντι-αποπτωτικούς μηχανισμούς

¹³ Κωδικεύει την καταλυτική υπομονάδα του μιτοχονδριακού ενζύμου DNA πολυμεράση και έχει εμπλακεί σε διάφορες μιτοχονδριακές ασθένειες

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε2.**Γενετικές διαταραχές που δεν είναι μονογονιδιακές****ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΟΥΔΟΥ ΓΙΑ ΠΟΛΥΠΛΟΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ**

Πολλοί παράγοντες συμβάλουν στην εμφάνιση της διαταραχής

Η επίδραση του κάθε παράγοντα είναι μικρή αλλά οι επιδράσεις είναι αθροιστικές

Όταν οι συσσωρευμένες επιδράσεις όλων των παραγόντων ξεπεράσουν μια κρίσιμη τιμή τότε εκδηλώνεται η διαταραχή

2.2. Νευροανατομία ΔΔ. Αν και ο συνολικός εγκεφαλικός όγκος τόσο της φαιάς όσο και της λευκής ουσίας φαίνεται να είναι φυσιολογικός σε ασθενείς με ΔΔ, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι υπάρχουν αλλοιώσεις σε συγκεκριμένες εγκεφαλικές δομές (Schloesser et al., 2008· Strakowski et al., 2005). Ο προμετωπιαίος φλοιός και υποφλοιϊκές δομές, όπως δομές του έσω κροταφικού λοβού που συγκροτούν το μεταιχμιακό σύστημα, πλήττονται στη ΔΔ (Strakowski et al., 2005).

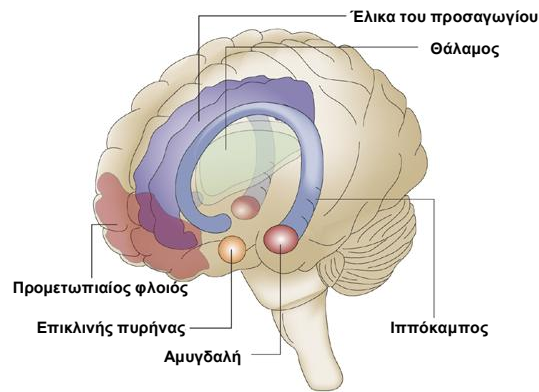
Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα ευρήματα αναφορικά με αλλαγές στη φαιά ουσία διαφέρουν μεταξύ των μελετών (Bearden et al., 2010· Kempton et al., 2008· Bearden et al., 2007). Ελλείμματα σε επίπεδο φαιάς ουσίας έχουν βρεθεί στην έλικα του προσαγωγίου και το κοιλιακό ραβδωτό (McDonald et al., 2004). Μεγάλο μέρος του ερευνητικού ενδιαφέροντος έχει επικεντρωθεί γύρω από την περιοχή του υπογονάτιου φλοιού του προσαγωγίου όπου έχει βρεθεί μείωση στον όγκο της φαιάς ουσίας (Drevets et al., 2008· Hirayasu et al., 1999· Drevets et al., 1997), η οποία ωστόσο έχει συσχετιστεί με απώλεια νευρογλοιακών κυττάρων και όχι νευρώνων. Η περιοχή του υπογονάτιου φλοιού του προσαγωγίου εμπλέκεται στην ρύθμιση της συναισθηματικής συμπεριφοράς (Drevets et al., 2008), την κινητοποίηση, τις επίσκοπώ συμπεριφορές (Devinsky et al., 1995) και την ανηδονία που παρατηρείται στην μονοπολική κατάθλιψη (Walter et al., 2009). Ωστόσο, τα ευρήματα στη βιβλιογραφία φαίνεται να είναι αντικρουόμενα, καθώς πολλές μελέτες δεν έδειξαν μείωση σε επίπεδο φαιάς ουσίας στην εν λόγω περιοχή (Sanches et al., 2005· Brambilla et al., 2002).

Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν αύξηση του όγκου της νήσου του Reil¹⁴ στο αριστερό ημισφαίριο, ενώ αυξημένος όγκος της μέλαινας ουσίας έχει βρεθεί ειδικά στον τύπο I της ΔΔ (Kempton et al., 2009). Επιπροσθέτως, σε παιδιά και εφήβους με πρώιμη έναρξη της νόσου έχει βρεθεί μειωμένος όγκος της αμυγδαλής, ενώ η χρόνια χορήγηση λιθίου ή βαλπροϊκού φαίνεται να σχετίζεται με τον αυξημένο όγκο της αμυγδαλής που έχει παρατηρηθεί σε ενήλικες διπολικούς ασθενείς (Chang et al., 2005).

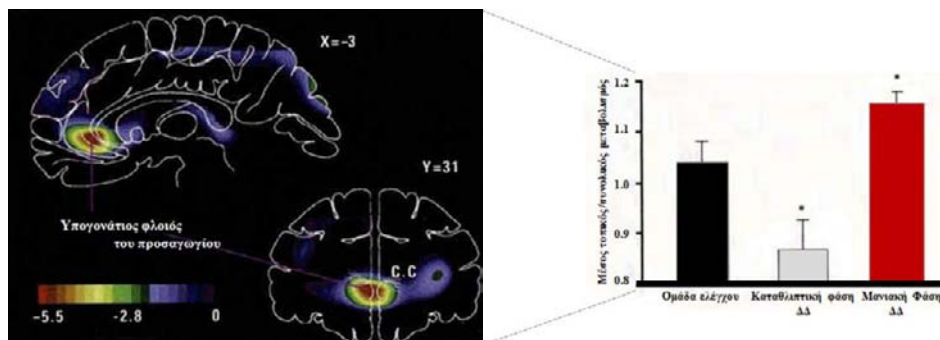
Όσον αφορά λειτουργικές ανατομικές δυσλειτουργίες, η μεταιχμιακή υπερδραστηριότητα και η υποδραστηριότητα του προμετωπιαίου φλοιού έχουν θεωρηθεί ως το νευροανατομικό και νευροβιολογικό υπόστρωμα της ΔΔ (Kupferschmidt & Zakzanis, 2011). Διαφορετική ενεργοποίηση περιοχών των φλοιο-μεταιχμιακών μονοπατιών φαίνεται να σχετίζεται με τη δυσλειτουργία της συναισθηματικής ρύθμισης που παρατηρείται στη διαταραχή. Πιο συγκεκριμένα, διαφορετική ενεργοποίηση έχει βρεθεί στον προμετωπιαίο φλοιό (Cerullo et al., 2009· Minton et al., 2009· Scherk et al., 2009) και ιδιαίτερα στην υπογονάτιο του μεσολοβίου περιοχή (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε4, Drevets et al., 2008· Kandel et al., 2006· Drevets et al., 1997), στην πρόσθια έλικα του προσαγωγίου (Cerullo et al., 2009· Scherk et al., 2009), στην αμυγδαλή (Whalley et al., 2011· Cerullo et al., 2009· Phillips, 2006), στο θάλαμο καθώς και στο ραβδωτό (Cerullo et al., 2009· Strakowski, 2005).

Όλο και περισσότερα δεδομένα εμπλέκουν διαταραχές της λευκής ουσίας στο νευροβιολογικό υπόστρωμα της διαταραχής, στηρίζοντας την υπόθεση ότι διακοπή ή δυσλειτουργία της συνδεσιμότητας περιοχών που εμπλέκονται στη γένεση και ρύθμιση του συναισθήματος σχετίζεται με την εμφάνιση της διαταραχής (Mahon et al., 2010). Τα πλέον συχνά νευροανατομικά ευρήματα σε ασθενείς με ΔΔ είναι η διεύρυνση των πλαγίων κοιλιών (+17%) και η αυξημένη ένταση της εν των βάθη λευκής ουσίας (Bearden et al., 2010· Kempton et al., 2008· Schloesser et al., 2008). Ωστόσο, ακόμα και το εύρημα της διεύρυνσης των πλαγίων κοιλιών έχει αμφισβητηθεί για όλο τον πληθυσμό των διπολικών ασθενών (McDonald et al., 2006). Ο μειωμένος όγκος του μεσολοβίου αποτελεί ένα επίσης συχνά αναφερόμενο νευροανατομικό εύρημα (Bearden et al., 2010· Mahon et al., 2009· Arrnone et al., 2008).

¹⁴ Νήσος του εγκεφάλου



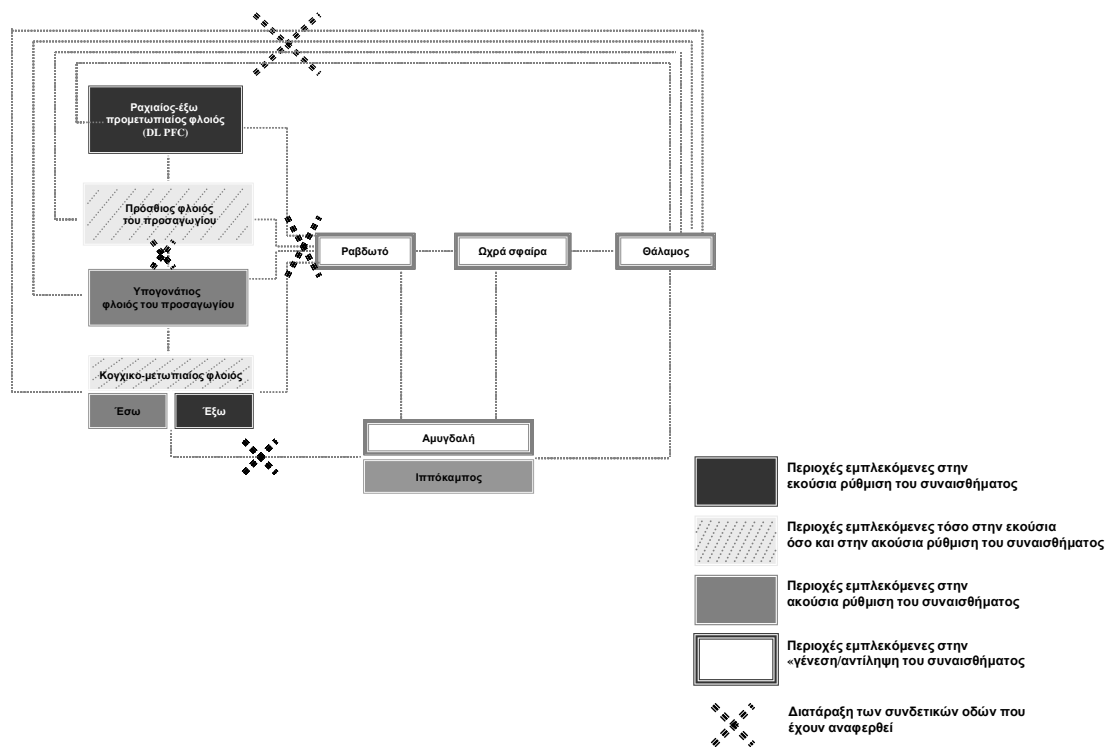
ΣΧΗΜΑ Ε3. Νευροανατομικό υπόστρωμα συναισθηματικών διεργασιών. Στις περιοχές που εμπλέκονται στη αντίληψη και τον έλεγχο συναισθηματικών καταστάσεων περιλαμβάνεται ο προμετωπιαίος φλοιός, ο φλοιός πρόσθια του προσαγωγίου, η αμυγδαλή, η νήσος του Reil, ο ιππόκαμπος και το κοιλιακό ραβδωτό. Νευροαπεικονιστικές τεχνικές και μεταθανάτιες μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη ποικίλων δομικών και λειτουργικών αλλαγών στις περιοχές αυτές σε ασθενείς με ΔΔ (Μεταφρασμένο από Schloesser et al., 2008).



ΣΧΗΜΑ Ε4. Μειωμένος μεταβολισμός γλυκόζης στον υπογονάτιο φλοιό πρόσθια του προσαγωγίου σε καταθλιπτικά υποκείμενα. Οβελιαία (αριστερά) και μετωπιαία (δεξιά) τομή που αποτελούνται από voxel t-τιμές. Οι αρνητικές t-τιμές εντοπίζονται 3mm αριστερά της μέσης γραμμής ($x = -3$) στην οβελιαία τομή και 31mm πρόσθια του πρόσθιου συνδέσμου ($y = 31$) στη μετωπιαία τομή. Ο μεταβολισμός γλυκόζης στην περιοχή αυτή είναι στατιστικά σημαντικά μειωμένος σε καταθλιπτικούς διπολικούς ασθενείς ενώ αντίθετα παρουσιάζεται αυξημένος σε διπολικούς ασθενείς που βρίσκονται σε μανιακή φάση. Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission tomography, PET) (Τροποποιημένο από: Drevets et al., 2008).

Η μείωση του όγκου της λευκής ουσίας σε μετωπιαίες και κροταφοβρεγματικές περιοχές σχετίζεται με την παρεμπόδιση της συνδεσιμότητας

μετωπιαίων-κροταφικών περιοχών που παρατηρείται στη ΔΔ αλλά και τη σχιζοφρένεια (McDonald et al., 2004). Πιο συγκεκριμένα, διαταραγμένη συνδεσιμότητα φλοιο-μεταιχμιακών δομών έχει ενοχοποιηθεί στην παθοφυσιολογία της νόσου. Οι Anand και συν. (2009), βρήκαν μειωμένη συνδεσιμότητα στον προγονιώδη πρόσθιο φλοιό του προσαγωγίου με το ραχιαίο μέσο θάλαμο, την αμυγδαλή και το ραβδωτό/ωχρά σφαίρα (Anand et al., 2009). Η δυσλειτουργία των κυκλωμάτων μετωπιαίος φλοιός-ραβδωτό-θάλαμος-μετωπιαίος φλοιός σε διαφορετικά επίπεδα οδηγεί σε δυσλειτουργική επεξεργασία συναισθηματικών πληροφοριών και ελλείμματα στη ρύθμιση του συναισθήματος (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε5, Mahon et al., 2010).



ΣΧΗΜΑ Ε5. Προτεινόμενο μοντέλο δυσλειτουργίας οδών λευκής ουσίας στη ΔΔ.

Δυσλειτουργία των κυκλωμάτων μετωπιαίος φλοιός-ραβδωτό-θάλαμος-μετωπιαίος φλοιός οδηγεί σε δυσλειτουργική επεξεργασία συναισθηματικών πληροφοριών και ελλείμματα στη ρύθμιση του συναισθήματος. Δυσλειτουργία των οδών που συνδέουν περιοχές που εμπλέκονται στην ακούσια/αυτόματη ρύθμιση του συναισθήματος, όπως ο έσω κογχυκο-μετωπιαίος φλοιός και η αμυγδαλή/ιππόκαμπος μπορεί να οδηγήσει σε ακραίες συναισθηματικές καταστάσεις. Λάθη στη συναισθηματική επεξεργασία σε οποιοδήποτε σημείο του κυκλώματος μπορούν να προκληθούν από δυσλειτουργία τόσο του συστήματος συναισθηματικής ρύθμισης (από την κορυφή στη βάση, top-down) όσο και του συστήματος «γένεσης»/αντίληψης συναισθήματος (από την βάση στην κορυφή, bottom-up). Παρ' όλο

που υπάρχουν σχετικές αναφορές δυσλειτουργίας των μειζόνων οδών εντός αυτών των κυκλωμάτων, περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την επαλήθευση της εγκυρότητας και της αξιοπιστίας του μοντέλου (Τροποποιημένο από Mahon et al., 2010).

Τέλος, εκτός από την αναφερόμενη μείωση του όγκου της λευκής ουσίας (van der Schot et al., 2009· Kieserppä et al., 2003), υπάρχουν δεδομένα που στηρίζουν την ύπαρξη και αλλαγών στην οργάνωση των οδών της λευκής ουσίας (Bearden et al., 2010· Chaddock et al., 2009· Wang et al., 2008). Για παράδειγμα, υπάρχουν ευρήματα που υποδεικνύουν ότι οι διπολικοί ασθενείς έχουν μειωμένη κλασματική ανισοτροπία¹⁵ στο γόνυ του μεσολοβίου στη δεξιά κατώτερη επίμηκη δεσμίδα και την αριστερή ανώτερη επίμηκη δεσμίδα (Chaddock et al., 2009) καθώς και στο πρόσθιο προσαγώγιο (Wang et al., 2008).

2.3. Νευροχημεία ΔΔ. Αν και το ακριβές νευροχημικό υπόστρωμα της ΔΔ δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί, έχει υποστηριχθεί ότι υπάρχει δυσλειτουργία σε ποικίλα νευροδιαβιβαστικά συστήματα, γεγονός που επηρεάζει την ευρύτερη κυτταρική σηματοδότηση. Στην προσπάθεια κατανόησης του υποκείμενου υποστρώματος, η φαρμακολογική γεφύρωση του χάσματος αποτελεί στρατηγική κλειδί για την κατανόηση της νευροχημείας της διαταραχής (Belmarker & Agam, 2005). Πέρα της κλασικής μονοαμινεργικής υπόθεσης που στηρίζει την εμπλοκή της σεροτονίνης, της ντοπαμίνης και της νοραδρεναλίνης (Shi et al., 2008· Belmarker & Agam, 2005· Diehl & Gershon, 1992) και τη θεωρία ανισορροπίας μεταξύ νευροδιαβιβαστικών συστημάτων (Rapoport et al., 2009· Bymaster & Felder, 2002· Janowsky et al., 1972) οι σύγχρονες θεωρίες επεκτείνονται στην εμπλοκή του εγκεφαλικού νευροτροφικού παράγοντα (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), στους υποδοχείς οπιοειδών (Zarate & Manji, 2008· Schaffer et al., 2007· Belmarker & Agam, 2005· Hurd, 2002), στη δυσλειτουργία του συστήματος του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA, Brambilla et al., 2003), στην απορρύθμιση των επιπέδων της μελατονίνης (Zarate & Manji, 2008· Hallam et al., 2005· Redman & Francis, 1998· Armstrong et al., 1993), στη δυσλειτουργία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-φλοιός επινεφριδίων (Zarate & Manji, 2008· Vacheron-Tystram et al., 2002· Dean, 2000) και σε δυσλειτουργίες

¹⁵ Η ιδιότητα του να εξαρτάται από την κατεύθυνση. Ο όρος είναι αντίθετος από την ισοτροπία που υποδηλώνει ταυτόσημες ιδιότητες προς όλες τις κατευθύνσεις

στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος (Du et al., 2009· Szabo et al., 2009· Belmarker & Agam, 2005). Αξίζει μάλιστα να αναφέρουμε ότι η σύγχρονη έρευνα για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας και την προαγωγή της φαρμακοθεραπείας των διαταραχών του συναισθήματος έχει μετατοπίσει το ενδιαφέρον της από τους νευροδιαβιβαστές και τους μεμβρανικούς υποδοχείς στα ενδοκυττάρια μονοπάτια διαβίβασης σήματος (Du et al., 2009).

2.3.1. Ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος και ΔΔ. Όπως προαναφέρθηκε, η σύγχρονη έρευνα για την παθοφυσιολογία των διαταραχών συναισθήματος έχει μετατοπίσει το ενδιαφέρον από τους νευροδιαβιβαστές και τους υποδοχείς στα ενδοκυττάρια μονοπάτια διαβίβασης σήματος (Szabo et al., 2009· Belmarker & Agam, 2005· Du et al., 2004). Ενδοκυτταρικά μονοπάτια που αποτελούνται από πολλές συνιστώσες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σε πολλαπλά επίπεδα σχηματίζοντας πολύπλοκα δίκτυα μηνυματοδότησης (Du et al., 2004). Αυτά τα πολύπλοκα δίκτυα μηνυματοδότησης αποτελούν έναν από τους μηχανισμούς μέσω του οποίου το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) και πιο συγκεκριμένα οι νευρώνες αποκτούν την ευελιξία να πραγματοποιούν μεγάλο εύρος αποκρίσεων (Du et al., 2004).

2.3.1.1. Διαταραχές της δραστηριότητας ενζύμων στη ΔΔ και η σημασία της φωσφορυλίωσης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος. Η φωσφορυλίωση είναι ένας από τους βασικότερους μηχανισμούς ρύθμισης της λειτουργίας πρωτεϊνών και λιπιδίων. Πραγματοποιείται σε συγκεκριμένα αμινοξέα¹⁶ και πρόκειται για μια αναστρέψιμη διαδικασία που ελέγχεται από ένζυμα. Συγκεκριμένα, η φωσφορυλίωση αναφέρεται στην ομοιοπολική σύνδεση μιας φωσφορικής ομάδας¹⁷ με ένα μικρό μόριο ή μια πρωτεΐνη, η οποία καταλύεται από ένζυμα που ονομάζονται κινάσες. Αντίθετα, η αποφωσφορυλίωση των πρωτεϊνών διαμεσολαβείται ένζυμα που ονομάζονται φωσφατάσες (Salter et al., 2009· Alberts et al., 2000). Η πρωτεϊνική φωσφορυλίωση ρυθμίζει πολλαπλές ιδιότητες των ιοντοτροπικών υποδοχέων συμπεριλαμβανομένης της ομαδοποίησης, της απευαισθητοποίησης και της μέγιστης ροής ρεύματος (Liao et al., 2001).

¹⁶ Σε σερίνες (Ser), θρεονίνες (Thr) ή ακόμα σε τυροσίνες (Tyr)

¹⁷ Φωσφορική ομάδα (PO_3^{-2})

Δυσλειτουργίες στη φωσφορυλίωση έχουν εμπλακεί στις διαταραχές του συναισθήματος (Jensen et al., 2000). Όπως θα δούμε αναλυτικά στη συνέχεια, πολλές κινάσες και φωσφατάσες έχουν εμπλακεί στην παθοφυσιολογία της ΔΔ καθώς αποτελούν στόχους δράσης των υπαρχόντων σταθεροποιητικών της διάθεσης αλλά και στόχους ανάπτυξης νέων, πιο εκλεκτικών φαρμακοθεραπειών για τη ΔΔ.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε3.

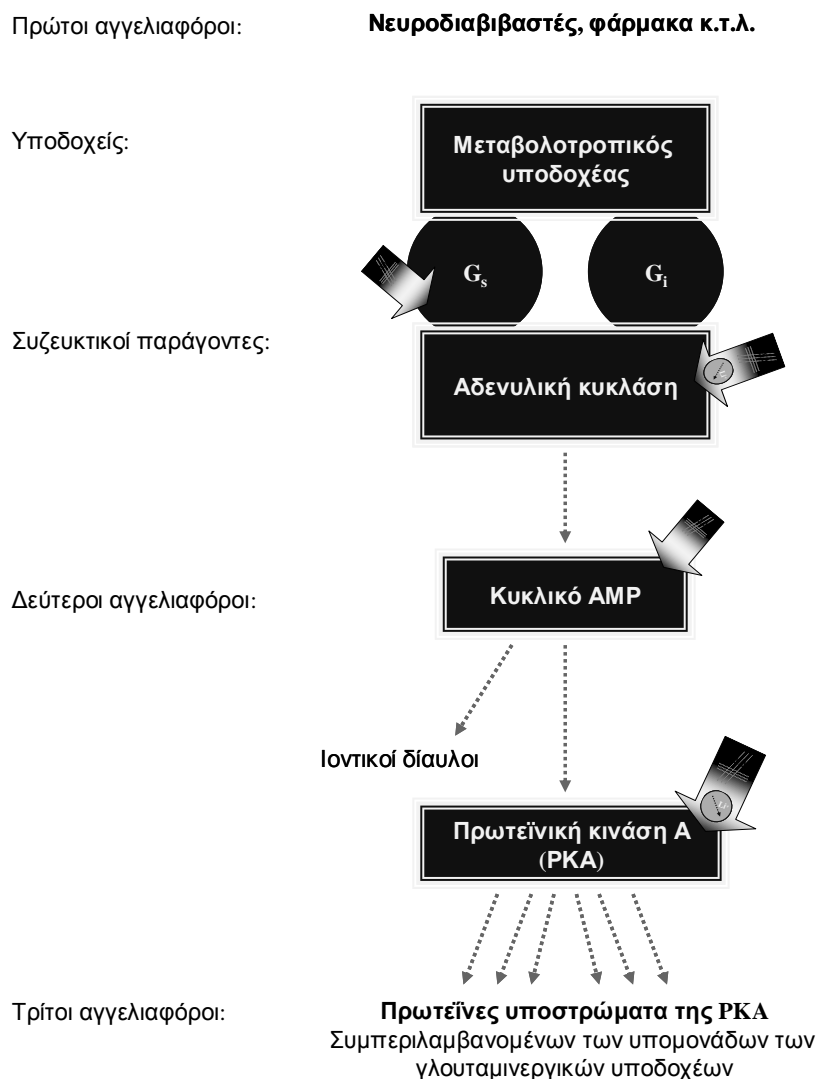
Έλεγχος κατάστασης φωσφορυλίωσης: ενζυμικά ελεγχόμενη μετα-μεταφραστική τροποποίηση πρωτεϊνών

ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΚΙΝΑΣΕΣ	Ένζυμα που χρησιμοποιούν ATP ως δότη φωσφορυλομάδων- Φωσφορυλίωση υποστρωμάτων.
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΕΣ	Ένζυμα που αφαιρούν φωσφορυλομάδες από τα υποστάματά τους υδrolύοντας ένα μονοστέρα φωσφορικού οξέος σε ιόν φωσφόρου και μια ελεύθερη -OH (υδροξύλ-ομάδα)- Αποφωσφορυλίωση υποστρωμάτων.

2.3.1.2. Το ενδοκυττάριο μονοπάτι του κυκλικού AMP (cyclic Adenosine Monophosphate, κυκλική Μονοφωσφορική Αδενοσίνη). Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν την ύπαρξη ανωμαλιών στο μονοπάτι του κυκλικού AMP (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε6, Karege et al., 2004· Chang et al., 2003a· Bezchlibnyk & Young, 2002· Stewart et al., 2001). Συγκεκριμένα έχει υποστηριχθεί ότι υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού σε κροταφικές και μετωπιαίες φλοϊκές περιοχές (Chang et al., 2003b). Μελέτες υποστηρίζουν ότι υπάρχουν δυσλειτουργίες στις υπομονάδες G-πρωτεϊνών σε διπολικούς ασθενείς (Du et al., 2004· Manji et al., 1995). Δεδομένα από μεταθανάτιες μελέτες σε εγκεφάλους ασθενών με διπολική διαταραχή υποστηρίζουν αυξημένα επίπεδα G_s^{18} , που φυσικά έχουν ως επακόλουθο την αυξημένη διέγερση του ενζύμου αδενυλική κυκλάση (Andreopoulos et al., 2003· Dowlatshahi et al., 1999· Manji et al., 1995· Young et al., 1993). Επιπροσθέτως, η επαγόμενη από την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cyclic Adenosine MonoPhosphate, cAMP) φωσφορυλίωση της Rap1 έχει βρεθεί να είναι σημαντικά αυξημένη στα αιμοπετάλια ασθενών με ΔΔ (Perez et al., 2000). Τέλος, αυξημένη δραστηριότητα της πρωτεϊνικής κινάσης Α (Protein Kinase A, PKA) έχει βρεθεί και σε

¹⁸ Μεταγωγός πρωτεΐνη G που διαθέτει διεγερτική α υπομονάδα

λεμφοβλαστικά κύτταρα ασθενών με ΔΔ (Karege et al., 2004) αλλά και σε αιμοπετάλια (Tardito et al., 2003).



ΣΧΗΜΑ Ε6. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού της αδενυλικής κυκλάσης/κυκλικού AMP/PKA για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται από τους Nestler et al., 2008. Τροποποίηση και προσαρμογή αναφορικά με τη ΔΔ και τις δράσεις του λιθίου με βάση τη βιβλιογραφία.

Πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η βασική δραστηριότητα της PKA είναι μειωμένη στον υπόκαμπο επίμωων στους οποίους έχει χορηγηθεί χρονίως χλωριούχο λίθιο (LiCl) ή βαλπροϊκό οξύ. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η χρόνια χορήγηση των σταθεροποιητικών αυτών της διάθεσης μείωσε τη φωσφορύλιωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA (α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-

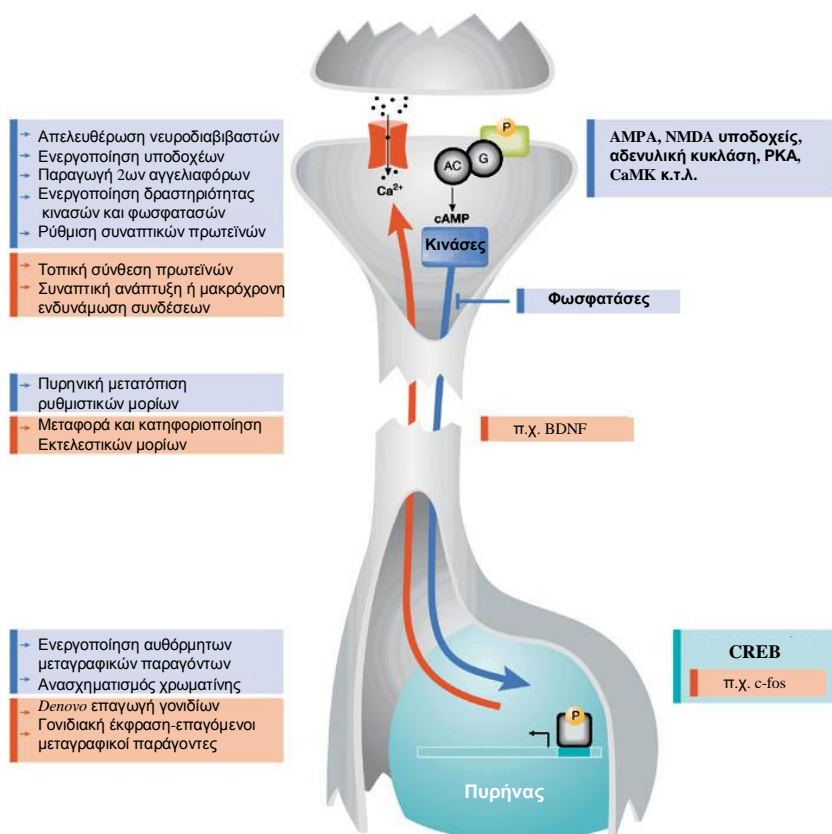
propionate υποδοχέων) στην εξαρτώμενη από την PKA θέση φωσφορυλίωσης, την Ser⁸⁴⁵ (Du et al., 2004).

2.3.1.2.1. Ο μεταγραφικός παράγοντας CREB (cAMP-responsive element binding protein, πρωτεΐνη πρόσδεσης που αποτελεί στοιχείο απόκρισης στο κυκλικό AMP). Ο μεταγραφικός αυτός παράγοντας ταυτοποιήθηκε το 1987 ως μια πρωτεΐνη 43kDa που εντοπίζεται στον πυρήνα των κυττάρων (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε7). Ανήκει σε μια μεγάλη ομάδα μεταγραφικών παραγόντων που ονομάζονται οικογένεια τομέα βασικού φερμουάρ λευκίνης (basic leucine zipper domain family, b-zip domain family). Η οικογένεια αυτή μεταγραφικών παραγόντων περιλαμβάνει τον ενεργοποιητικό μεταγραφικό παράγοντα 1 (activation transcription factor 1) και τον ρυθμιστή του αποκρινόμενου στο κυκλικό AMP στοιχείου (cAMP-responsive element modulator, CREM). Ο CREB εμπλέκεται σε ποικίλες διεργασίες συμπεριλαμβανομένων της νευροανάπτυξης, της συναπτικής πλαστικότητας και της νευροπροστασίας. Ο χαρακτηρισμός του CREB έγινε 20 χρόνια πριν και από τότε έχει συγκεντρώσει γύρω του το ενδιαφέρον για την κατανόηση του ρόλου του στο ΚΝΣ (Sakamoto et al., 2011).

Ο CREB μπορεί να οργανωθεί σε διακριτά τμήματα που επιτρέπουν το διμερισμό του καθώς και την αλληλεπίδρασή του με το DNA, με συνπαράγοντες και με το βασικό μεταγραφικό σύμπλοκο. Στο C-τελικό του άκρο εντοπίζεται το b-zip τμήμα που επιτρέπει την πρόσδεση του DNA, το οποίο προσδένεται στο CRE και στο τμήμα του διμερισμού και επιτρέπει ομο- και ετερο-διμερισμό. Στο N-τελικό του άκρο βρίσκεται η περιοχή πλούσια σε γλουταμίνη-1 (glutamine rich-1, Q1), η οποία ακολουθείται από το επαγόμενο από κινάση τμήμα (kinase-inducible domain, KID) και την περιοχή πλούσια σε γλουταμίνη-2 (glutamine rich-2, Q2). Οι περιοχές αυτές αλληλεπιδρούν με διάφορους συνπαράγοντες καθώς και με στοιχεία του βασικού μεταγραφικού συμπλόκου (Sakamoto et al., 2011).

Η ενεργοποίηση σχετιζόμενων με τον CREB μεταγραφικών διεργασιών απαιτεί την ενεργοποίηση διαφόρων κινασών (Sakamoto et al., 2011). Η ενεργοποίηση της PKA οδηγεί σε αύξηση της φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στη Ser¹³³ γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της μεταγραφικής δραστηριότητας (Sakamoto et al., 2011· Liang et al., 2008). Ο CREB μπορεί επίσης να ενεργοποιηθεί μέσω αναστολής της GSK-3, η οποία ρυθμίζει αρνητικά τη φωσφορυλίωση της Ser¹²⁹ (Liang et al., 2008) αλλά και μέσω των PKC (Πρωτεϊνική

Κινάση C) και CaMK (ασβεστιο-εξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης) II και IV (Sakamoto et al., 2011· Yan et al., 1999). Επιπλέον, υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν ότι και η ενεργοποίηση των NMDA (N-μέθυλ-D-ασπαρτικού) υποδοχέων ρυθμίζει τη φωσφορυλίωση και κατ' επέκταση την ενεργοποίηση του CREB (Nijholt et al., 2002). Επιπρόσθετα στη φωσφορυλίωση η οποία ρυθμίζεται από τη δραστηριότητα, η αποφωσφορυλίωση του CREB στη Ser¹³³ μπορεί να ρυθμιστεί μέσω ανάλογων μηχανισμών από τις πρωτεϊνική φωσφατάση 1 (Protein Phosphatase 1, PP1) και πρωτεϊνική φωσφατάση 2A (Protein Phosphatase 2A, PP2A) οδηγώντας σε καταστολή της μεταγραφής. Παρ' όλα αυτά ο CREB δε ρυθμίζεται μόνο από την κατάσταση φωσφορυλίωσής του αλλά και από άλλους εναλλακτικούς μηχανισμούς όπως η ακετυλίωση, η γλυκοζυλίωση και η ουβικουϊτίνωση (Sakamoto et al., 2011).



ΣΧΗΜΑ Ε7. Ενεργοποίηση CREB και πλαστικότητα. Η ενεργοποίηση του CREB κατέχει μείζονα ρόλο στη νευρωνική πλαστικότητα. Η φωσφορυλίωσή του από εξαρτώμενες από τη δραστηριότητα πρωτεϊνικές κινάσες οδηγεί στην επαγωγή της έκφρασης γονιδίων. Αντίθετα, μείωση της φωσφορυλίωσής του από τις φωσφατάσες καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση (Μεταφρασμένο και τροποποιημένο από Gasic et al., 2006).

Ο CREB ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων συμπεριλαμβανομένων γονιδίων νευροδιαβιβαστών, αυξητικών παραγόντων, μεταγραφικών παραγόντων, παραγόντων που μεταβιβάζουν σήμα καθώς και μεταβολικών ενζύμων, γονιδίων δηλαδή κρίσιμων για τη νευρωνική ανάπτυξη, πλαστικότητα και προστασία (Sakamoto et al., 2011). Σε CP12 κύτταρα¹⁹ στα οποία είχε «χορηγηθεί» φορσκολίνη ταυτοποιήθηκαν 6302 περιοχές πρόσδεσης του CREB (Imprey et al., 2004).

Ο CREB είναι γνωστός για την εμπλοκή του σε διεργασίες μάθησης και μνήμης (Sakamoto et al., 2011· Carlezon et al., 2005). Ωστόσο, ποικίλα στοιχεία στηρίζουν διαφορετικούς ρόλους του CREB, άλλοτε ευδοτικούς και άλλοτε ανασταλτικούς σε συνάρτηση με την εμπλεκόμενη περιοχή. Έτσι, η επαγωγή του CREB στον ιππόκαμπο από τα αντικαταθλιπτικά μπορεί να συμβάλει στη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα ενώ η ενεργοποίηση του CREB στον επικλινή πυρήνα και διάφορες άλλες περιοχές διαμεσολαβεί για διάφορες πτυχές του εθισμού καθώς και καταθλιπτικόμορφες και αγχώδεις συμπεριφορές. Αυτή η διφασική του δράση υποδεικνύει διαφορετικές στρατηγικές αναφορικά με τους προς τα πάνω εμπλεκόμενους παράγοντες ή τα συγκεκριμένα γονίδια στόχους που ρυθμίζονται από τον CREB και μπορεί να συμβάλουν στη θεραπεία νευροψυχιατρικών διαταραχών (Carlezon et al., 2005).

Ο μεταγραφικός παράγοντας CREB στον επικλινή πυρήνα έχει βρεθεί ότι κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του συναισθήματος. Σε επίμυες, αυξημένη δραστηριότητα του CREB στον επικλινή πυρήνα προκαλεί καταθλιπτικόμορφη συμπτωματολογία, συμπεριλαμβανομένης της ανηδονίας, ενώ μείωση της δραστηριότητας του CREB σχετίζεται με αντικαταθλιπτικές δράσεις. Μείωση της δραστηριότητας του CREB στον επικλινή πυρήνα επηρεάζει την κινητοποίηση και με ταυτόχρονη διευκόλυνση της ενίσχυσης και μείωση καταθλιπτικόμορφων καταστάσεων όπως είναι η ανηδονία και η δυσφορία (DiNieri et al., 2009).

Τα σταθεροποιητικά της διάθεσης ρυθμίζουν τη δραστηριότητα του CREB (Manji et al., 2000). Ωστόσο, άλλες μελέτες υποδεικνύουν ότι μόνο το λίθιο και όχι το VPA μειώνει τη φωσφορυλίωση του CREB στο φλοιό και τον ιππόκαμπο γεγονός που έχει συσχετιστεί με τις θεραπευτικές του δράσεις (Chen et al., 1999c· Wang et al., 1999).

¹⁹ Κύτταρα που προέρχονται από το φαιοχρωμοκύτωμα του φλοιού των επινεφριδίων επίμυ

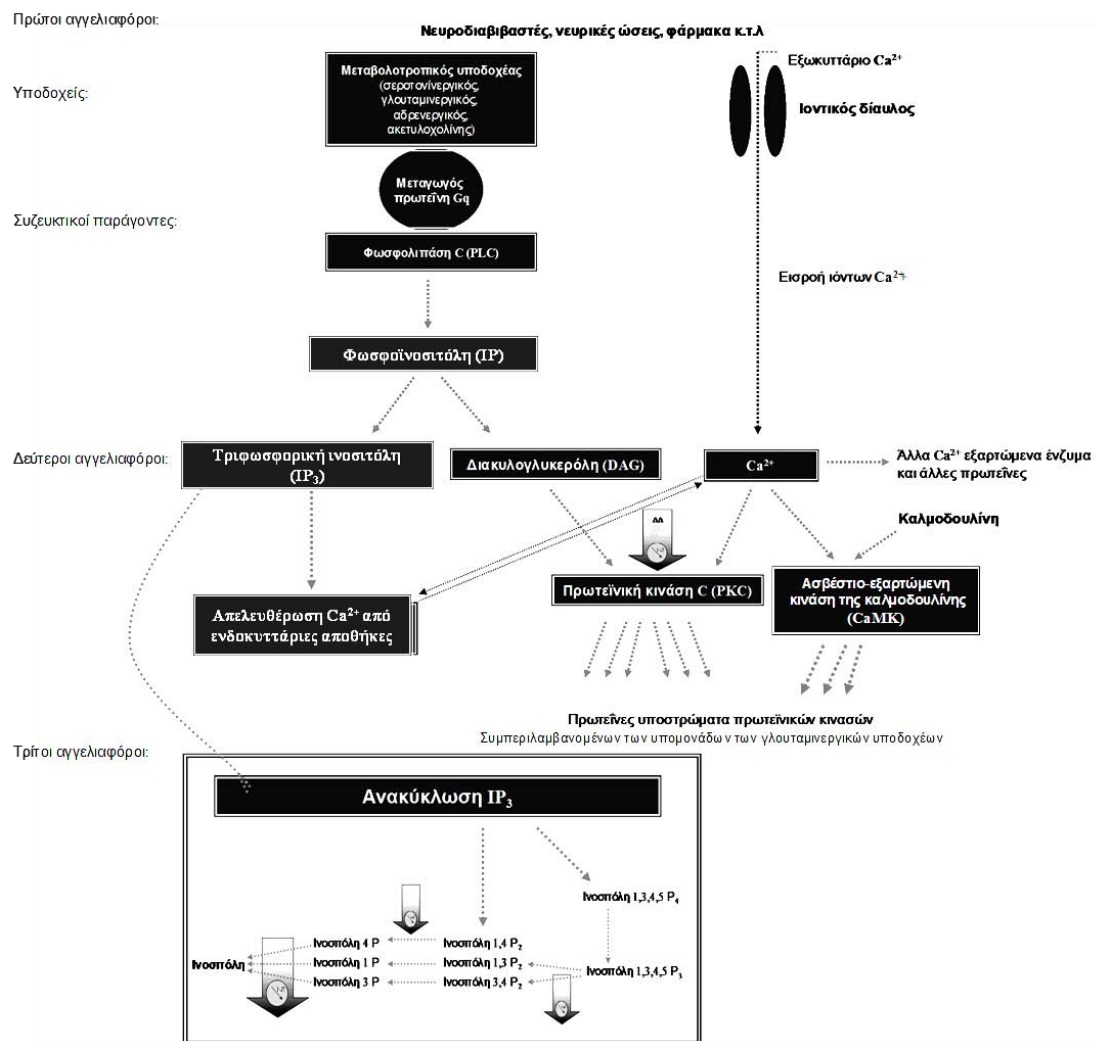
Εν κατακλείδι, ο CREB αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή ποικίλων φυσιολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της πλαστικότητας, της ανάπτυξης του ΚΝΣ, της κυτταρικής επιβίωσης καθώς και της μάθησης-μνήμης. Δυσλειτουργία σχετιζόμενων με τον CREB μεταγραφικών διεργασιών μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ψυχοπαθολογίας ενώ στοχευμένη αύξηση της ρύθμισής του μπορεί να είναι ιδιαίτερος ωφέλιμη για την αύξηση της συναπτικής πλαστικότητας και την προαγωγή της νευροπροστασίας του ΚΝΣ (Sakamoto et al., 2011).

2.3.1.3. Το ενδοκυττάριο μονοπάτι των φωσφολιπιδίων: Φωσφολιπάση C (PLC), φωσφοϊνοσιτόλη (IP), πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Το ενδοκυττάριο μονοπάτι των φωσφολιπιδίων είναι ένα από πλέον δημοφιλή στη σύγχρονη έρευνα γύρω από το νευροβιολογικό υπόστρωμα της ΔΔ (Zarate & Manji, 2009· Hahn & Friedman, 1999). Η μανία έχει συσχετιστεί με υπερδραστικότητα του ενζύμου PKC²⁰ (Ali et al., 2010· Zarate & Manji, 2009· Hahn et al., 2005· Hahn & Friedman, 1999· Wang et al., 1999· Iwata et al., 1997a· 1997b· Wang & Friedman, 1996· Friedman et al., 1993), ενώ συσχετιστικές μελέτες εύρους γονιδιώματος εμπλέκουν στην παθοφυσιολογία της ΔΔ ένα ένζυμο που μειώνει την δραστικότητα της PKC (Zarate & Manji, 2009).

Η PKC ενεργοποιείται έπειτα από τη διέγερση ποικίλων υποδοχέων νευροδιαβιβαστών που επάγουν την υδρόλυση μεμβρανικών φωσφολιπιδίων (Du et al., 2004). Στους υποδοχείς αυτούς συμπεριλαμβάνονται οι M₁, M₃ και M₅ υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, οι α₁ αδρενεργικοί υποδοχείς, οι μεταβολοτροπικοί γλουταμινεργικοί υποδοχείς καθώς και οι 5-HT_{2A} υποδοχείς της σεροτονίνης (Du et al., 2004). Η ενεργοποίηση της PKC οδηγεί στη μετατόπισή της ενώ η υποκυτταρική εντόπισή της ρυθμίζει την πρόσβασή της σε ενεργοποιητές και υποστρώματα (Zarate

²⁰ Η PKC είναι μια οικογένεια δομικά σχετιζόμενων ισοενζύμων με ετερογενή κατανομή στο σώμα. Έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 12 ισομορφές που διαφέρουν ως προς τη δομή, την υποκυτταρική εντόπιση τους, την εκλεκτικότητα στους ιστούς, το μοτίβο ενεργοποίησής τους αλλά και την εξειδίκευση των υποστρωμάτων τους. Οι ισομορφές υποδιαιρούνται σε τρεις κατηγορίες με βάση τις προϋποθέσεις ενεργοποίησής τους: κλασικές/συμβατικές, νέες (novel), και άτυπες. Οι κλασικές/συμβατικές (α, βI, βII, γ) ενεργοποιούνται μόνο παρουσία ασβεστίου και διακυλογλυκερόλης (DAG). Οι νέες ισομορφές (δ, ε, η, θ, μ) στις οποίες εκλείπει το C2 τμήμα (domain) πρόσδεσης ασβεστίου, απαιτούν μόνο την παρουσία DAG (διακυλογλυκερόλης) για να ενεργοποιηθούν. Τέλος, οι άτυπες ισομορφές (ζ, λ/ι) στις οποίες εκλείπει τόσο το C2 τμήμα όσο και το C1 τμήμα πρόσδεσης DAG δεν απαιτούν ούτε την παρουσία ασβεστίου ούτε την παρουσία DAG αλλά αποκρίνονται μόνο σε λιπιδικούς μεσολαβητές όπως η φωσφατυδιλινοσιτόλη 3,4,5-τριφωσάτη (Zarate & Manji, 2009).

& Manji, 2009). Εντοπίζεται και ρυθμίζει τόσο την προσυναπτική όσο και την μετασυναπτική νευροδιαβίβαση ενώ παρουσιάζει υψηλή συγκέντρωση στις προσυναπτικές τελικές απολήξεις (Zarate & Manji, 2009). Η διανομή της στο ΚΝΣ είναι ετερογενής. Λειτουργικά, κατέχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της νευρωνικής διεγερσιμότητας, την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, τις μακροχρόνιες αλλαγές που σχετίζονται με την έκφραση γονιδίων καθώς και την ευρύτερη νευρωνική πλαστικότητα (Szabo et al., 2009· Zarate & Manji, 2009).



ΣΧΗΜΑ Ε8. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού των φωσφολιπιδίων: Φωσφολιπάση C (PLC)/φωσφοϊνοσιτόλη (IP)/ πρωτεϊνική κινάση C (PKC) για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι καθώς και οι επιδράσεις του λιθίου στην ανακύκλωση της IP₃ παρουσιάζονται από τους Nestler et al., 2008. Τροποποίηση και προσαρμογή αναφορικά με τη ΔΔ και τις δράσεις του λιθίου με βάση τη βιβλιογραφία.

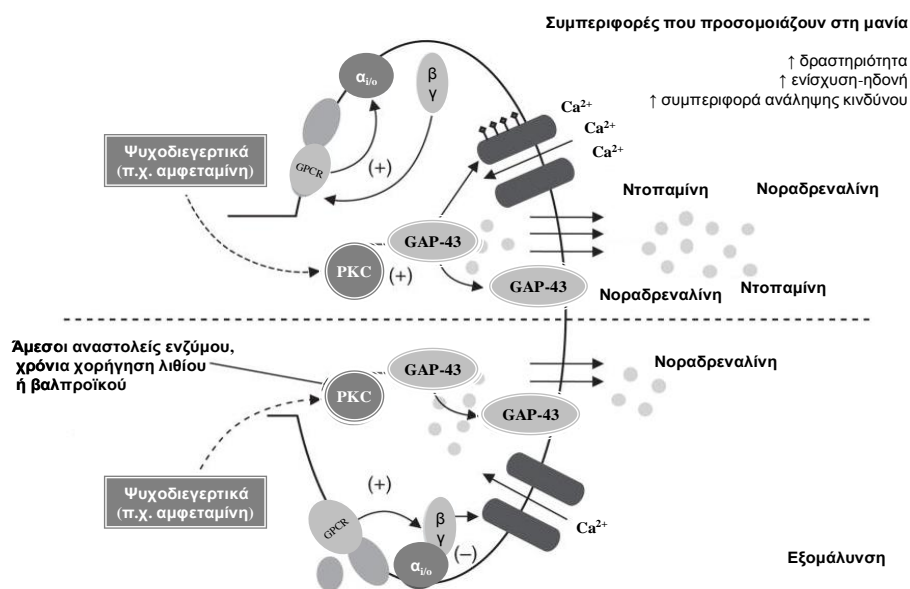
Δεδομένα στηρίζουν την ύπαρξη αλλαγών σε πολλαπλά επίπεδα στο μονοπάτι των φωσφολιπιδίων στους διπολικούς ασθενείς (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε8). Η δραστηριότητα της φωσφολιπάσης C, της φωσφοϊνοσιτόλης (Pandey et al., 2002) καθώς και διάφορων ισομορφών της PKC έχουν βρεθεί μειωμένες σε αιμοπετάλια διπολικών ασθενών (Pandey et al., 2008· 2002). Ακόμα, ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο της φωσφολιπάσης C_{γ-1} (phospholipase Cgamma-1, PLCG1) έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την καλή απόκριση στη θεραπεία με λίθιο σε διπολικούς ασθενείς (Ftouhi-Paquin et al., 2003· Lønlie et al., 2003· Turecki et al., 1998) ενώ αναφορικά με την ινοσιτόλη, η εξάντληση των επιπέδων της έχει σχετιστεί με το σχηματισμό νέων συνάψεων και την αύξηση του όγκου της φαιάς ουσίας έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (Kim et al., 2009). Επιπρόσθετες αλλαγές έχουν βρεθεί στην έκφραση της διακυλογλυκερόλης β (DAGβ) (Hozumi et al., 2009).

Έντονο ωστόσο είναι το ενδιαφέρον γύρω από την PKC καθώς πολλά είναι τα δεδομένα που υποδεικνύουν αλλαγές στη δραστηριότητα της PKC στις διαταραχές του συναισθήματος (Zarate & Manji, 2008· Du et al., 2004· Hahn & Friedman, 1999· Wang & Friedman, 1996). Ευρήματα από μεταθανάτιες μελέτες σε εγκεφάλους διπολικών ασθενών έχουν δείξει αυξημένη δραστηριότητα της PKC καθώς και αυξημένη μετατόπιση της (translocation) στην πλασματική μεμβράνη (Wang & Friedman, 1996). Αυξημένα επίπεδα PKC στη μεμβράνη έχουν βρεθεί και σε αιμοπετάλια μανιακών ασθενών τα οποία φαίνεται να ομαλοποιούνται έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (Friedman et al., 1993). Αντίθετα, μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου έχει βρεθεί σε ασθενείς με μονοπολική κατάθλιψη (Wang et al., 1999).

Επιπλέον στήριξη για την εμπλοκή της PKC στη ΔΔ αποτελεί το γεγονός ότι τα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης της αμφεταμίνης, που μπορούν να επάγουν μανιακά συμπτώματα ακόμα και σε υγιή άτομα επάγουν την δραστηριότητα της PKC με συνακόλουθη φωσφορυλίωση του υποστρώματός της GAP-43 (growth-associated protein 43kDa) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε9, Zarate & Manji, 2009· Gnegy et al., 1993· Giambalvo, 1992). Επιπροσθέτως, έχειδειχθεί ότι αναστολείς της PKC αναστέλλουν βιοχημικές και συμπεριφορικές αποκρίσεις επαγόμενες από τη χορήγηση αμφεταμίνης (Einat et al., 2007· Browman et al., 1998) και κοκαΐνης (Steketee, 1993· 1994). Ακόμα, τόσο το λίθιο όσο και το βαλπροϊκό οξύ έμμεσα αναστέλλουν τη δραστηριότητα της PKC (Zarate & Manji, 2009· Lenox & Wang, 2003· Manji & Lenox, 1999· Chen et al., 1994). Έτσι μεγάλο μέρος της σύγχρονης έρευνας έχει

εστιαστεί την μελέτη της PKC ως ενδεχόμενου θεραπευτικού στόχου ανάπτυξης νέων φαρμακευτικών αγωγών (Zarate & Manji, 2009).

Προκαταρκτικές κλινικές μελέτες στηρίζουν την αποτελεσματικότητα αναστολέων της PKC στην θεραπεία της οξείας μανίας (Bebchuk et al., 2000). Η ταμοξιφαίνη, ένα φάρμακο που αναστέλλει την PKC και παρουσιάζει αντιμανιακές δράσεις σε ζωικά μοντέλα μανίας (Moretti et al., 2011· Pereira et al., 2011· Sabioni et al., 2008· Einat et al., 2007), βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό στη μανιακή φάση της ΔΔ, είτε ως μονοθεραπεία (DiazGranados & Zarate, 2008· Yildiz et al., 2008) είτε ως συμπληρωματική θεραπεία στο λίθιο (Amrollahi et al., 2011). Επιπροσθέτως η βεραπαμίλη, που επίσης αναστέλλει την PKC αλλά επιπλέον δρα και ως αναστολέας διαύλων ασβεστίου, έχει βρεθεί ότι έχει αντιμανιακές δράσεις ως συμπληρωματική θεραπεία στο λίθιο, αλλά όχι ως μονοθεραπεία (Mallinger et al., 2008).



ΣΧΗΜΑ Ε9. Φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας. Τα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης της αμφεταμίνης, επάγουν την ενεργοποίηση της PKC η οποία οδηγεί στη φωσφορυλίωση του υποστρώματός της GAP-43 και την απελευθέρωση ντοπαμίνης και νοραδρεναλίνης στη σύναψη. Η εισροή ασβεστίου οδηγεί σε περαιτέρω αύξηση της απελευθέρωσης ντοπαμίνης και νοραδρεναλίνης. Ο μηχανισμός αυτός υποστηρίζεται ότι μπορεί να οδηγήσει σε συμπεριφορικό φαινότυπο που προσομοιάζει στη μανία. Αναστολείς της PKC, καθώς και η χρόνια χορήγηση λιθίου ή βαλπροϊκού οδηγούν σε αναστολή της δραστηριότητας του ενζύμου PKC, μείωση της εισροής ασβεστίου και της συνακόλουθης απελευθέρωσης μεγάλων ποσοτήτων νευροδιαβιβαστών στη συναπτική σχισμή (Τροποποιημένο από Zarate & Manji, 2009).

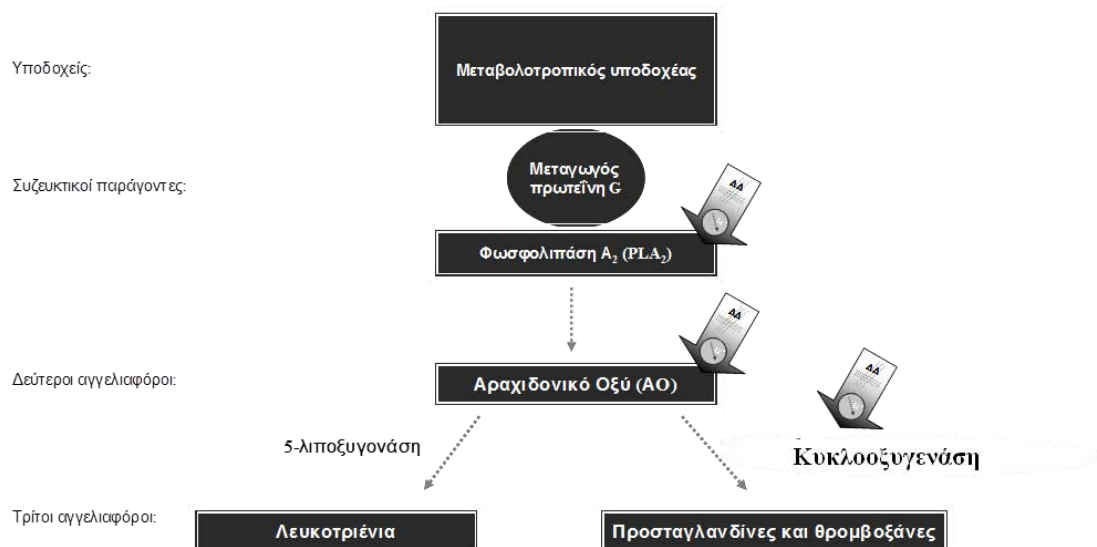
Συμπερασματικά, υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν την εμπλοκή του μονοπατιού των φωσφολιπιδίων και της PKC στη ΔΔ και προτείνουν την κινάση αυτή ως ενδεχόμενο μοριακό στόχο ανάπτυξης νέων εκλεκτικών φαρμακευτικών αγωγών.

2.3.1.4. Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος. Το αραχιδονικό οξύ (ΑΟ) είναι ένα προϊόν που απελευθερώνεται από μεμβρανικά φωσφολιπίδια μέσω ενεργοποίησης μεταβολοτροπικών υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνες G και της συνακόλουθης ενεργοποίησης της φωσφολιπάσης A_2 (PLA₂). Αυτή η δράση οδηγεί σε απελευθέρωση ΑΟ από την κυτταρική μεμβράνη και σε διαμεσολαβούμενη από την κυκλοοξυγενάση (COX-) παραγωγή εικοσανοειδών²¹ μεταβολιτών: προσταγλανδίνες και θρομβοξάνες (Rao & Rapoport, 2009; Marmol, 2008; Nestler et al., 2008; Kandel et al., 2003). Η βιολογική δραστηριότητα των εικοσανοειδών μεταβολιτών σχετίζεται με τη ρύθμιση της δραστηριότητας της αδενυλικής και γουανυλικής κυκλάσης, τη ρύθμιση της δραστηριότητας ιοντικών διαύλων, πρωτεϊνικών κινασών και άλλων κυτταρικών πρωτεϊνών. Οι μεταβολίτες αυτοί που παράγονται ενδοκυττάρια, θεωρείται ότι διαχέονται έξω από το νευρώνα λόγω των λιποφιλικών τους ιδιοτήτων και δρουν στους εξωκυττάριους υποδοχείς του ίδιου νευρώνα (αυτοκρινική επίδραση) ή σε υποδοχείς γειτονικών νευρώνων (παρακρινική επίδραση) (Nestler et al., 2008).

Πολλά δεδομένα φαίνεται να στηρίζουν την ύπαρξη αλλαγών στον μεταβολισμό ΑΟ σε διπολικούς ασθενείς (Rao & Rapoport, 2009; Sublette et al., 2004; Hibbeln et al., 1989). Πρόσφατες μεταθανάτιες μελέτες σε διπολικούς ασθενείς υποδεικνύουν αλλαγές σε ένζυμα εμπλεκόμενα στο μονοπάτι του ΑΟ (Kim et al., 2011). Πιο συγκεκριμένα έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση της PLA₂, της κυκλοοξυγενάσης-2 καθώς και της μεμβρανικής συνθάσης της προσταγλανδίνης E (prostaglandin E synthase), ενώ έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση κυκλοοξυγενάσης-1 και κυτοσολικής συνθάσης της προσταγλανδίνης E στον μετωπιαίο φλοιό διπολικών ασθενών (Kim et al., 2011). Επιπλέον, σε παλαιότερες μελέτες έχει σχετιστεί ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο της PLA₂ με τη νόσο (Jacobsen et al., 1999; 1996; Dawson et al., 1995).

²¹ Διαθέτουν είκοσι άτομα άνθρακα στο μόριό τους.

Γενικά, φαίνεται ότι ένας από τους στόχους πολλών σταθεροποιητικών της διάθεσης²² είναι και το μονοπάτι του ΑΟ (Duncan & Bazinet, 2010· Rao et al., 2008· Lee et al., 2007· Rao & Raporport, 2003). Το λίθιο έχει δειχθεί ότι μειώνει κατά 80% την ανακύκλωση ΑΟ (Marmol, 2008· Lee et al., 2007). Παρόμοια δράση ως προς την ανακύκλωση του ΑΟ φαίνεται ότι έχει και το βαλπροϊκό οξύ καθώς και η καρβαμαζεπίνη (Rao et al., 2008· Lee et al., 2007). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τόσο το λίθιο όσο και το βαλπροϊκό οξύ μειώνουν την έκφραση των γονιδίων και των πρωτεϊνών PLA₂ και COX-2 (Stolk et al., 2010· Marmol, 2008· Lee et al., 2007). Αντίθετα, σε ζωικά μοντέλα για τη ΔΔ έχει βρεθεί αύξηση της ανακύκλωσης ΑΟ (Lee et al., 2007). Άλλες μελέτες σε επίμυες έχουν δείξει ότι η ινδομεθακίνη (indomethacin) και η πυροξικάμη (piroxicam), μη εκλεκτικοί αναστολείς της COX, αναστέλλουν την επαγόμενη από αμφεταμίνη υπερκινητικότητα (Marmol, 2008).



ΣΧΗΜΑ Ε10. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού μεταβολισμού ΑΟ για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται τροποποιημένο από Rao & Raporport, 2009· Nestler et al., 2008· Kandel et al., 2003.

Αν και φαίνεται ότι υπάρχουν πολλά δεδομένα που εμπλέκουν το μονοπάτι του ΑΟ στη ΔΔ, πρόσφατες φαρμακοεπιδημιολογικές μελέτες σε ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία με λίθιο υποδεικνύουν ότι δεν υπάρχει ισχυρή συσχέτιση

²² Λίθιο, βαλπροϊκό οξύ, καρβαμαζεπίνη, λαμοτριγίνη (Rao & Raporport, 2003)

μεταξύ όλων των φαρμάκων που αναστέλλουν την PLA₂ και/ή τα ένζυμα COX και της άμβλυσης της συμπτωματολογίας της ΔΔ (Stolk et al., 2010). Τα δεδομένα αυτά ωστόσο θα πρέπει να ερμηνευθούν υπό το πρίσμα μιας πολυπαραγοντικής νόσου και όχι ως ενδείξεις απουσίας συμβολής του μονοπατιού του ΑΟ στη διαταραχή.

2.3.1.5. Η κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου 3 (GSK-3). Η GSK-3 είναι μια σημαντική κινάση που λειτουργεί ως μεσολαβητής σε πολλά ενδοκυττάρια μηνυματοφόρα μονοπάτια (Newberg et al., 2008; Du et al., 2004). Ταυτοποιήθηκε και ονομάστηκε έτσι λόγω της ικανότητάς της να φωσφορυλιώνει και να απενεργοποιεί το μεταβολικό ένζυμο συνθάση του γλυκογόνου (Li & Jope, 2010; Marmol, 2008). Εν συνεχεία βρέθηκε ότι η GSK-3 επηρεάζει πολλές πτυχές της νευρωνικής δραστηριότητας όπως η έκφραση γονιδίων, η νευρογένεση, η συναπτική πλαστικότητα, η νευρωνική δομή καθώς και το νευρωνικό θάνατο και επιβίωση (Li & Jope, 2010). Πιο συγκεκριμένα, γνωρίζουμε ότι αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή κυτταροσκελετικών διαδικασιών μέσω των επιδράσεών της στις πρωτεΐνες tau και συναψίνη I (synapsin I) ενώ ρυθμίζει μακροχρόνια πυρηνικά γεγονότα μέσω της φωσφορυλίωσης του c-jun, της πυρηνικής μετατόπισης της β-catenin και την εξαγωγή από τον πυρήνα του πυρηνικού παράγοντα των ενεργοποιημένων T κυττάρων (nuclear factor of activated T cells, NFATc). Παρά το ότι όλες αυτές οι δράσεις της GSK-3 είναι σημαντικές, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον των ερευνητών γι' αυτήν οφείλεται στις δράσεις της αναφορικά με την απόπτωση και την κυτταρική πλαστικότητα αποτελώντας σημαντικό ρυθμιστή της νευρωνικής επιβίωσης και των κυτταρικών αποκρίσεων σε γλυκοκορτικοειδή και οιστρογόνα (Marmol, 2008).

Παρ' όλο που οι δύο GSK-3 πρωτεΐνες αναφέρονται ως ισομορφές, GSK-3α και GSK-3β, είναι παράλογες πρωτεΐνες²³ που κωδικεύονται από ανεξάρτητα γονίδια, τα οποία μοιράζονται 85% ομολογία ακολουθίας, συμπεριλαμβανομένου 97% ομολογίας της περιοχής της κινάσης. Και οι δύο ισομορφές εκφράζονται σε όλο τον εγκέφαλο ενώ έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 50 υποστρώματα της GSK-3 (Li & Jope, 2010).

Σε αντίθεση με τις περισσότερες κινάσες και οι δύο ισομορφές της GSK-3 είναι μερικώς ενεργοί σε μη διεγερμένα κύτταρα και ρυθμίζονται κυρίως με έναν

²³ Τα γονίδιά τους δημιουργούνται με διπλασιασμό των υπάρχοντων γονιδίων και στη συνέχεια με απόκλιση της λειτουργίας τους

ανασταλτικό τρόπο από μηνύματα προερχόμενα από ποικίλα ενδοκυττάρια μονοπάτια (Marmol, 2008). Πολλές κινάσες, όπως η Akt (Cross et al., 1995), η PKC (Goode et al., 1992) και η PKA (Fang et al., 2000) φωσφορυλιώνουν την GSK-3 σε σερίνες στο N-τελικό άκρο τους, τη Ser²¹ GSK-3α και την Ser⁹ GSK-3β (Li & Jope, 2010).

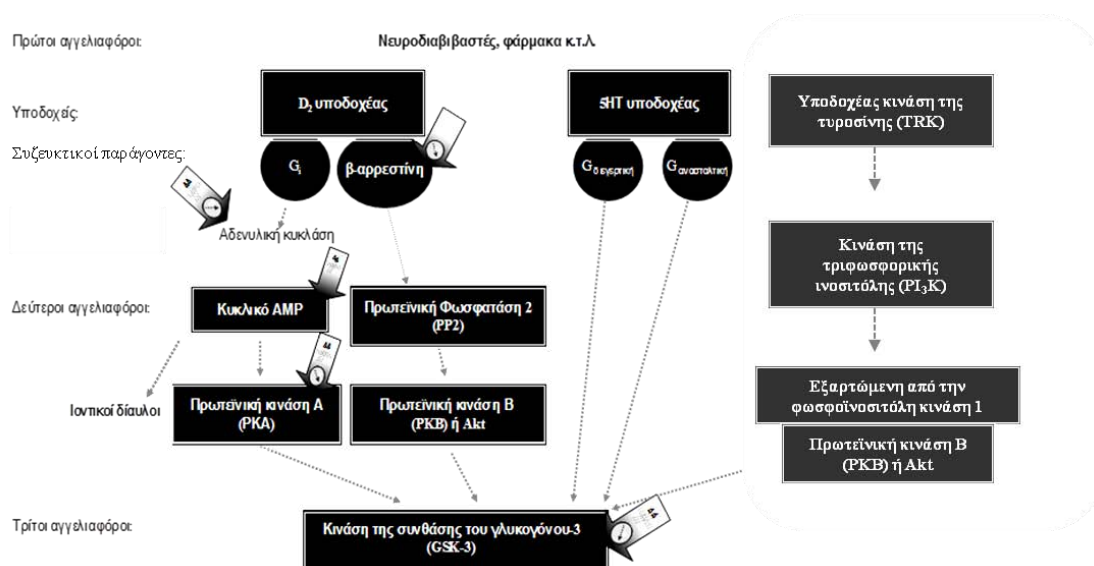
Πολλά είναι τα δεδομένα που υποδεικνύουν την εμπλοκή της GSK-3β στη ΔΔ (Amar et al., 2011· Jope, 2011· Li & Jope, 2010· Polter et al., 2010· Jope & Roh, 2006). Δυσλειτουργία της GSK-3 έχει υποστηριχθεί ότι προάγει την εμφάνιση διαταραχών του συναισθήματος και η αναστολή της πιστεύεται ότι αποτελεί θεραπευτικό στόχο των σταθεροποιητικών της διάθεσης. Επιπρόσθετα στοιχεία υποστηρίζουν ότι η κατάθλιψη μπορεί να σχετίζεται με παρεμποδισμένο ανασταλτικό έλεγχο της GSK-3 ενώ η μανία με υπερδιέγερσή της (Jope, 2011).

Γενετικές μελέτες σύνδεσης εμπλέκουν πολυμορφισμούς στο γονίδιο της GSK-3 στη ΔΔ (Chen et al., 2010· Serretti et al., 2008· Benedetti et al., 2004) αν και δεν υπάρχει συμφωνία όλων των μελετών μεταξύ τους. Επιπλέον δεν έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών στο γονίδιο αυτό και προφυλακτικών επιδράσεων του λιθίου (Rybakowski et al., 2011· Michelon et al., 2006· Szczepankiewicz et al., 2006). Επιπλέον, πολυμορφισμοί στο γονίδιο της GSK-3 έχουν βρεθεί να σχετίζονται με την ηλικία έναρξης της νόσου (Althoff et al., 2005). Τέλος, το γονίδιο *DISC* που έχει εμπλακεί στην παθοφυσιολογία της ΔΔ ρυθμίζεται από τη δραστηριότητα της GSK-3β (Mao et al., 2010).

Παρ' όλα αυτά, μέχρι και σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή κλινικά δεδομένα για δυσλειτουργίες στη GSK-3 σε διπολικούς ασθενείς (Li et al., 2010). Μια μεταθανάτια μελέτη σε καταθλιπτικά υποκείμενα έδειξε αύξηση στη δραστηριότητα της GSK-3β και μείωση στη δραστηριότητα της Akt σε υποκείμενα που είχαν οδηγηθεί σε αυτοκτονία (Karege et al., 2007). Ωστόσο, μεταθανάτιες μελέτες σε εγκεφάλους διπολικών ασθενών δεν έδειξαν αλλαγές στα επίπεδα της GSK-3 (Kozlovsky et al., 2000· Lesort et al., 1999). Άλλες μελέτες υποδεικνύουν αυξημένα επίπεδα της συνολικής GSK-3 σε διπολικούς ασθενείς τύπου I ενώ μειωμένα επίπεδα βρέθηκαν στη μεμβράνη και το κυτοσόλιο αιμοπεταλίων σε διπολικούς ασθενείς που δε λαμβάνουν θεραπευτική αγωγή (Pandey et al., 2010). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η GSK-3 ρυθμίζεται σε μανιακούς διπολικούς ασθενείς που

βρίσκονται σε θεραπεία με σταθεροποιητικά της διάθεσης (Βλ. ΣΧΗΜΑ E11, Li et al., 2010· Pandey et al., 2010).

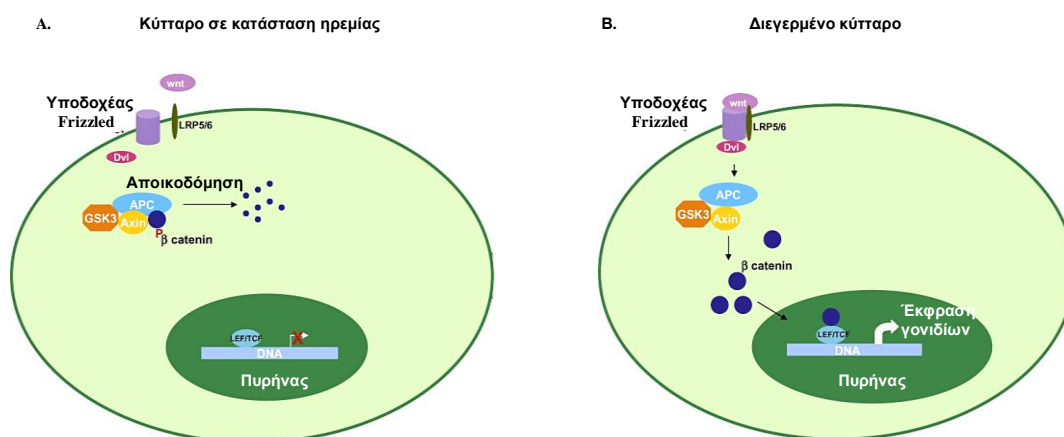
Πιο συγκεκριμένα, τα σταθεροποιητικά της διάθεσης, τα αντιψυχωσικά και τα αντικαταθλιπτικά αυξάνουν την ανασταλτική φωσφορυλίωση της GSK-3. Το λίθιο έχει δείχθει ότι αναστέλλει άμεσα τη δραστηριότητα της GSK-3 ενώ και το βαλπροϊκό αναστέλλει τη δραστηριότητά της μέσω ενός άγνωστου μηχανισμού (Lenox et al., 2002). Καθώς η GSK-3 παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των νευρώνων, αυτή η δράση της έχει υποστηριχθεί ότι αποτελεί το στόχο του λιθίου και του βαλπροϊκού (Newberg et al., 2008). Οι νευροπροστατευτικές δράσεις της GSK-3 επιπροσθέτως προέρχονται και από τη μείωση της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης tau, υπερφωσφορυλίωση της οποίας παρατηρείται κατά τα πρώιμα στάδια της νόσου Alzheimer και μπορεί να προηγείται της διατάραξης των μικροσωληνίσκων του κυτταροσκελετού (Marmol, 2008).



ΣΧΗΜΑ E11. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού της GSK-3 για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται τροποποιημένο από Beaulieu, 2011· Li & Jope, 2010.

Πρόσφατα φαρμακολογικά και γενετικά δεδομένα σε ζώα υποδεικνύουν ότι ο χειρισμός του μονοπατιού της GSK-3 προκαλεί τόσο αντικαταθλιπτικές όσο και αντιμανιακές δράσεις (Newberg et al., 2008). Πιο συγκεκριμένα, φαρμακολογική ή γενετική αναστολή της GSK-3β οδηγεί σε αντιμανιακό συμπεριφορικό φαινότυπο,

όπως παρατηρείται έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (Beaulieu et al., 2004). Αντίθετα, υπερέκφραση της GSK-3β σε ποντίκια προκαλεί υπερδραστηριότητα και συμπεριφορές που προσομοιάζουν στη μανία (Marmol, 2008). Η έρευνα των Wilkinson και συνεργατών (2011) έδειξε ότι εκλεκτική υπερέκφραση της GSK-3β στον επικλινή πυρήνα προκαλεί καταθλιπτικό-μορφο φαινότυπο σε πειραματόζωα. Σε προκλινικές φαρμακολογικές μελέτες με τη χρήση εκλεκτικών αναστολέων της GSK-3β έχει βρεθεί ότι οι αναστολείς αυτοί αναστέλλουν συμπεριφορές που προσομοιάζουν στη μανία, όπως η επαγόμενη από αμφεταμίνη υπερδραστηριότητα (Kalinichev & Dawson, 2011).



ΣΧΗΜΑ Ε12. Σχηματική απεικόνιση της εμπλοκής της GSK-3 στη μηνυματοδότηση μέσω Wnt. Σε μη διεγερμένα κύτταρα, η β catenin παρουσιάζεται σε ένα πολύ-πρωτεϊνικό σύμπλοκο αποτελούμενο από την GSK-3, την Axin και την APC. Φωσφορυλίωση της β catenin από την GSK-3 οδηγεί την β catenin σε διαμεσολαβούμενη από το πρωτεάσωμα αποδόμηση. Σε διεγερμένα κύτταρα, η πρόσδεση του Wnt στον υποδοχέα Frizzled και τον συν-υποδοχέα LRP5/6 οδηγεί σε ενεργοποίηση του Dishevelled (Dvl) που οδηγεί σε αναστολή της φωσφορυλίωσης της β catenin από το πολλαπλό σύμπλοκο και σε σταθεροποίηση και συσσώρευση στο κυτταρόσωμο. Η σταθεροποιημένη β catenin μετακινείται στον πυρήνα και επηρεάζει τους μεταγραφικούς παράγοντες LEF/TCF οδηγώντας σε αύξηση της έκφρασης των γονιδίων στόχων. APC, adenomatous polyposis coli¹ LEF/TCF, lymphoid enhancer factor/T cell factor (Από Rayasam et al., 2009).

Αξίζει να αναφέρουμε ότι το λίθιο αναστέλλει μανιακές συμπεριφορές σχετιζόμενες με τη ντοπαμίνη μέσω του μονοπατιού της Akt/GSK-3 (Beaulieu et al., 2004). Επιπροσθέτως, άλλες μελέτες υποδεικνύουν ότι η ανασταλτική φωσφορυλίωση της GSK-3 είναι σημαντικά αυξημένη παρουσία σεροτονίνης και το

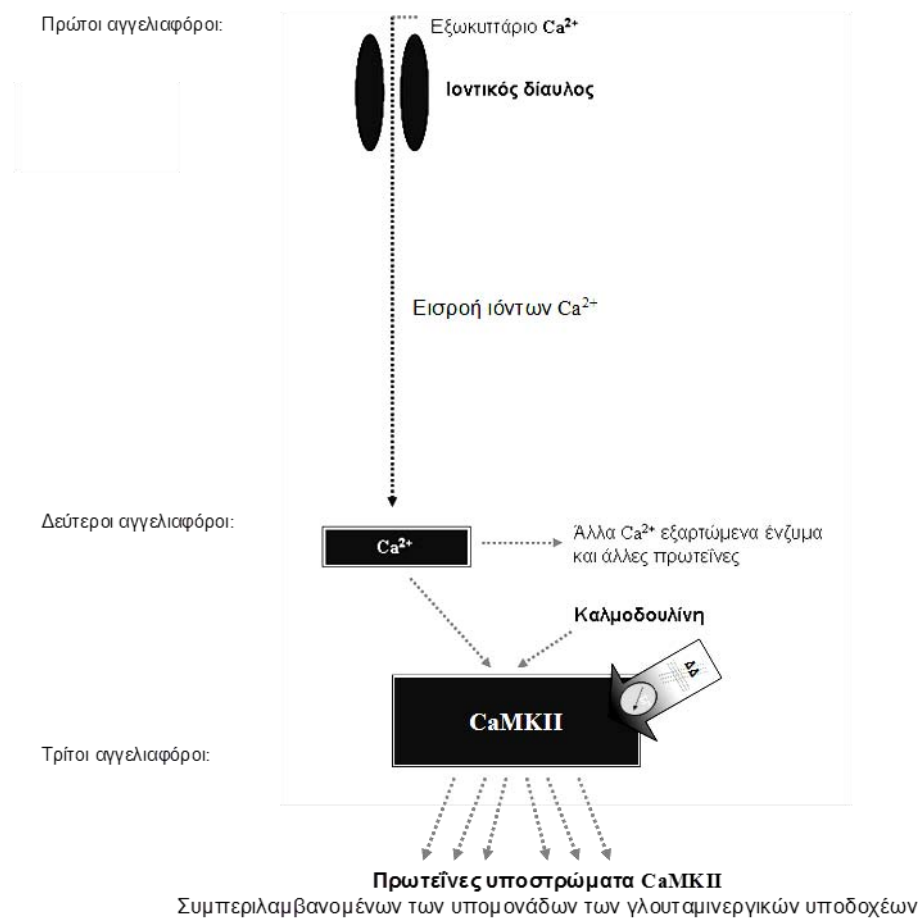
μονοπάτι αυτό φαίνεται ότι σχετίζεται με ελλειμματικές συμπεριφορές, ενώ η αναστολή της GSK-3 μπορεί να είναι σημαντική συνέπεια αντικαταθλιπτικών αγωγών που στοχεύουν στο σεροτονινεργικό σύστημα (Marmol, 2008).

Η GSK-3, κατέχει επίσης σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των επιπέδων της β -catenin. Αναστολή της GSK-3 προκαλεί αύξηση στη συσσώρευση β -catenin, λόγω της μείωσης του ρυθμού αποικοδόμησής της (Βλ. ΣΧΗΜΑ E12). Η χρόνια χορήγηση λιθίου οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων β -catenin και γι αυτό και η αύξηση αυτή αποτελεί δείκτη της αποτελεσματικότητας του λιθίου να ρυθμίσει την GSK-3. Επιπροσθέτως, η υπερέκφραση της β -catenin προκαλεί ένα συμπεριφορικό φαινότυπο που προσομοιάζει με αυτόν που παρατηρείται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση λιθίου (Marmol, 2008).

Εν κατακλείδι, ο ακριβής ρόλος της GSK-3 στη ΔΔ παραμένει άγνωστος (Serretti et al., 2008). Γνωρίζουμε ωστόσο ότι τα σταθεροποιητικά της διάθεσης αυξάνουν την ανασταλτική φωσφορυλίωση της GSK-3 γεγονός που έχει υποστηριχθεί ότι σχετίζεται με τις αντιμανιακές τους δράσεις (Lenox et al., 2002). Αν και προκλινικές μελέτες στηρίζουν το ρόλο της GSK-3 ως πιθανού θεραπευτικού στόχου για την ΔΔ, μέχρι και σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή κλινικά δεδομένα για δυσλειτουργίες στο μονοπάτι της GSK-3 στη ΔΔ. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η GSK-3 ρυθμίζεται σε μανιακούς διπολικούς ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία με σταθεροποιητικά της διάθεσης στηρίζοντας την υπόθεση της GSK-3 ως θεραπευτικού στόχου ανάπτυξης νέων εκλεκτικών φαρμακοθεραπειών (Li et al., 2010).

2.3.1.6. Η ασβέστιο-εξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης II (CaMKII). Η CaMKII είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στον εγκέφαλο (Yamasaki et al., 2008; Bronstein et al., 1993). Είναι ένα ολοένζυμο που αποτελείται από τέσσερα ισόζυμα (isozymes) (α , β , γ , δ). Φωσφορυλιώνει υποστρώματα όπως οι AMPA υποδοχείς, η συναψίνη I, η υδροξυλάση της τυροσίνης και οι διάλυτοι ασβεστίου τύπου L καθώς και αυτοφωσφορυλιώνεται. Η CaMKII κατέχει σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα καθώς και στο σχηματισμό μνημών (Yamasaki et al., 2008).

Όπως προαναφέραμε, η CaMKII κατέχει κεντρικό ρόλο στην LTP (Long-term potentiation, μακρόχρονη ενδυνάμωση), η οποία στις διεγερτικές γλουταμινεργικές συνάψεις ενεργοποιείται από την εισροή Ca^{2+} μέσω των NMDA υποδοχέων και διευκολύνει τα ρεύματα μέσω AMPA υποδοχέων. Η επαγωγή της LTP απαιτεί την αυτοφωσφορύλιωση της CaMKII στην Thr^{286} (O'Leary et al., 2011), γεγονός που διατηρεί το ένζυμο ενεργό ανεξάρτητα από την παρατεταμένη παρουσία Ca^{2+} (Kumar, 2011· Lisman, 1994).



ΣΧΗΜΑ E13. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού της CaMKII για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται από τους Nestler et al., 2008. Τροποποίηση και προσαρμογή αναφορικά με τη ΔΔ και τις δράσεις του λιθίου με βάση τη βιβλιογραφία.

Μειωμένα επίπεδα του mRNA (messenger RNA, μηνυματοφόρο RNA) της CaMKIIα έχουν βρεθεί στον προμετωπιαίο φλοιό διπολικών ασθενών γεγονός που έχει συσχετιστεί με τις συναισθηματικές και γνωσιακές αλλαγές που παρατηρούνται

στη διαταραχή (Molnar et al., 2003· Xing et al., 2002). Αντίθετα, αυξημένη έκφραση της CaMKIIα έχει βρεθεί σε καταθλιπτικούς ασθενείς ενώ η CaMKIIβ έχει βρεθεί αυξημένη στον ίδιο πληθυσμό στο φλοιό (Novak et al., 2006).

Το λίθιο έχει δείχθει ότι μειώνει την ενεργοποίηση της CaMKII (Celloni et al., 2003). Επιπροσθέτως, μείωση στην ενεργοποίηση της CaMKII έπειτα από τη χορήγηση λιθίου έχει βρεθεί σε ένα μοντέλο ισχαιμίας, γεγονός που έχει συσχετιστεί με τις νευροπροστατευτικές του δράσεις (Sasaki, 2006). Εκτός από στόχο δράσης του λιθίου, η CaMKII έχει προταθεί ότι αποτελεί και στόχο δράσης του βαλπροϊκού οξέος (Savina et al., 2008). Τέλος, και ο D₂ ανταγωνιστής αλοπεριδόλη έχει δείχθει ότι μειώνει την φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων της CaMKII (Fumagalli et al., 2008).

Συμπερασματικά, υπάρχουν κάποια ευρήματα που εμπλέκουν το μονοπάτι της CaMKII στη ΔΔ (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε13, Molnar et al., 2003· Xing et al., 2002), ενώ και αυτή η κινάση φαίνεται ότι αναστέλλεται έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (Sasaki et al., 2006· Celloni et al., 2003). Η σημαντική εμπλοκή της CaMKII στην LTP και σε ευρύτερες διεργασίες συναπτικής πλαστικότητας την καθιστά ενδιαφέροντα στόχο μελέτης σε ψυχιατρικές διαταραχές που χαρακτηρίζονται από νευρο-πλαστικότητα, όπως η ΔΔ.

2.3.1.7. Η Fyn. Η Fyn είναι μέλος της Src (Sarcoma) οικογένειας κινασών της τυροσίνης μη-υποδοχέων και εκφράζεται σε όλο τον εγκέφαλο ενώ παρουσιάζει μέτρια μόνο έκφραση στην αμυγδαλή, τον επικλινή πυρήνα, το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και τον μεσεγκέφαλο. Η Fyn αποτελείται από έξι περιοχές (domains): την Src ομόλογη περιοχή που περιέχει σημεία τροποποίησης λιπιδίων, μια μοναδική περιοχή, τις SH2 και SH3 περιοχές, μια καταλυτική περιοχή και ένα κοντό αυτό-ανασταλτικό άκρο (Lee & Messing, 2008).

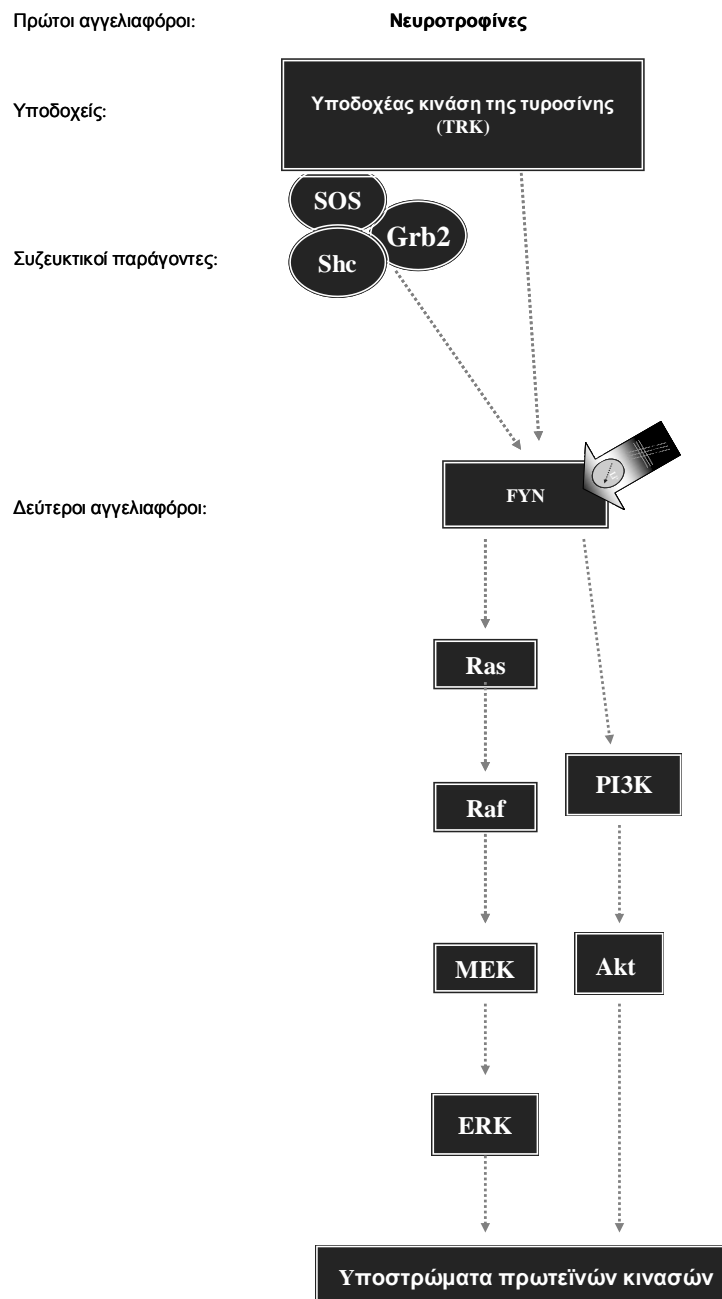
Κατέχει σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα και LTP. Ποντίκια που τους έχει εξαλειφθεί το γονίδιο *fyn* παρουσιάζουν διαταραγμένη ανάπτυξη του ιπποκάμπου, ελλείμματα στην LTP στον ιππόκαμπο και παρεμποδισμένη χωρική μάθηση ενώ ο φαινότυπος αυτός φαίνεται να διασώζεται (rescue) με την επανεισαγωγή του γονιδίου της *fyn* (Grant et al., 1992).

Η Fyn αλληλεπιδρά και ρυθμίζει τη λειτουργία πολλών υποδοχέων νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο και διαμεσολαβεί για τις επιδράσεις των νευροτροφινών (Yamada & Nabeshima, 2003). Έχει δείχθει ότι διαμεσολαβεί για την διαμεμβανική ενεργοποίηση των Trk-A και Trk-B υποδοχέων των νευροτροφινών *in*

vitro (Rajagopal & Chao, 2006), ενώ αλληλεπιδρά άμεσα με τους 5-HT₆ υποδοχείς της σεροτονίνης μέσω της SH3 περιοχής και η αλληλεπίδραση αυτή αυξάνει την δραστικότητα της Fyn. Επιπροσθέτως, η εξαρτώμενη από τη σεροτονίνη ενεργοποίηση της ERK διαμεσολαβεί από τη Fyn υποδηλώνοντας αλληλεπίδραση των μονοπατιών της Fyn-ERK (Lee & Messing, 2008). Ακόμα η Fyn αλληλεπιδρά άμεσα με τον α₇ νικοτινικό υποδοχέα γεγονός που μπορεί να συμβάλει στην νευροπροστασία που σχετίζεται με τη διέγερση του νικοτινικού υποδοχέα (Kihara et al., 2001). Τέλος, όπως θα δούμε αναλυτικά στη συνέχεια, η Fyn μπορεί να αυξήσει τη δραστηριότητα του NMDA υποδοχέα, μέσω της φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² ενώ επίσης διαμεσολαβεί τις επαγόμενες από το BDNF αυξήσεις της δραστηριότητας των NMDA υποδοχέων (Lee & Messing, 2008· Kalia et al., 2004). Αύξηση της φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² έχει παρατηρηθεί έπειτα κατά την έναρξη της LTP αλλά και μετά το πέρας της (Nakazawa et al., 2001).

Συσχετιστικές μελέτες έχουν εντοπίσει δύο πολυμορφισμούς στο γονίδιο *fyn*²⁴ οι οποίοι φαίνεται ότι σχετίζονται με τη νόσο (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε14, Szczepankiewicz et al., 2009a). Αντίθετα, παρόμοιες μελέτες δεν έχουν εντοπίσει συσχέτιση σε πολυμορφισμούς στο γονίδιο *fyn* με την αποτελεσματικότητα του λιθίου (Szczepankiewicz et al., 2009b).

²⁴ Πρόκειται για τους πολυμορφισμούς rs6916861 T/G και rs3730353 T/C



ΣΧΗΜΑ Ε14. Στοιχεία (elements) του ενδοκυττάριου μονοπατιού της Fyn για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται από τους Saito et al., 2010; Nestler et al., 2008. Τροποποίηση και προσαρμογή αναφορικά με τη ΔΔ και τις δράσεις του λιθίου με βάση τη βιβλιογραφία.

Πρόσφατες συσχετιστικές μελέτες έδειξαν ότι οι προφυλακτικές αντιμανιακές δράσεις του λιθίου συσχετίζονται με πολυμορφισμούς στο γονίδιο *fyn* (Rybakowski et

al., 2011· Szczepankiewicz et al., 2009b). Επιπλέον, υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν ότι το λίθιο μειώνει τη δραστηριότητα της Fyn (Ma & Zang, 2003), συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² (Hashimoto et al., 2003· 2002).

Συμπερασματικά, υπάρχουν δεδομένα που εμπλέκουν το γονίδιο *fyn* με τη ΔΔ (Szczepankiewicz et al., 2009a) και την αποτελεσματικότητα του λιθίου (Szczepankiewicz et al., 2009b). Επιπροσθέτως, υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν ότι το λίθιο ρυθμίζει τη δραστηριότητα της Fyn (Lee & Messing, 2008· Kalia et al., 2004· Nakazawa et al., 2001).

2.3.1.8. Το μονοπάτι των BDNF/ERK και η νευροτροφική υπόθεση. Οι νευροτροφίνες εμπλέκονται στη νευρωνική επιβίωση και τη συναπτική πλαστικότητα και για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον γύρω από την εμπλοκή τους στις ψυχικές διαταραχές έχει αυξηθεί (Stein et al., 2008). Ο BDNF, είναι ένας νευροτροφικός παράγοντας και κατέχει σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα και τη νευρογένεση (Fernades et al., 2011· Grande et al., 2010). Στον ενήλικο εγκέφαλο, ο BDNF δεν είναι σημαντικός μόνο για τη συναπτική πλαστικότητα αλλά και για τη δενδριτική ανάπτυξη και την παγίωση μακρόχρονων μνημών (Grande et al., 2010).

Όπως προαναφέραμε, το γονίδιο του BDNF είναι ένα από τα γονίδια που έχει εμπλακεί στη γενετική βάση της ΔΔ (Stein et al., 2008· Frey et al., 2007). Συγκεκριμένα, ένα SNP στο χρωμόσωμα 11p13 που αφορά αντικατάσταση του αμινοξέος βαλίνη (val) σε μεθιονίνη (met) στο κωδικόνιο 66 (Val66Met) μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στην εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα έκκριση του BDNF (Egan et al., 2003). Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι υποκείμενα με το αλληλόμορφο Val66Met παρουσιάζουν δυσλειτουργίες σε εξαρτώμενες από τον κροταφικό λοβό συμπεριφορές, μικρότερο όγκο ιππόκαμπου, αμυγδαλής ή κροταφικών περιοχών, ενώ επιπροσθέτως παρουσιάζουν και διαταραγμένη ενεργοποίηση του ιππόκαμπου και της αμυγδαλής (Stein et al., 2008).

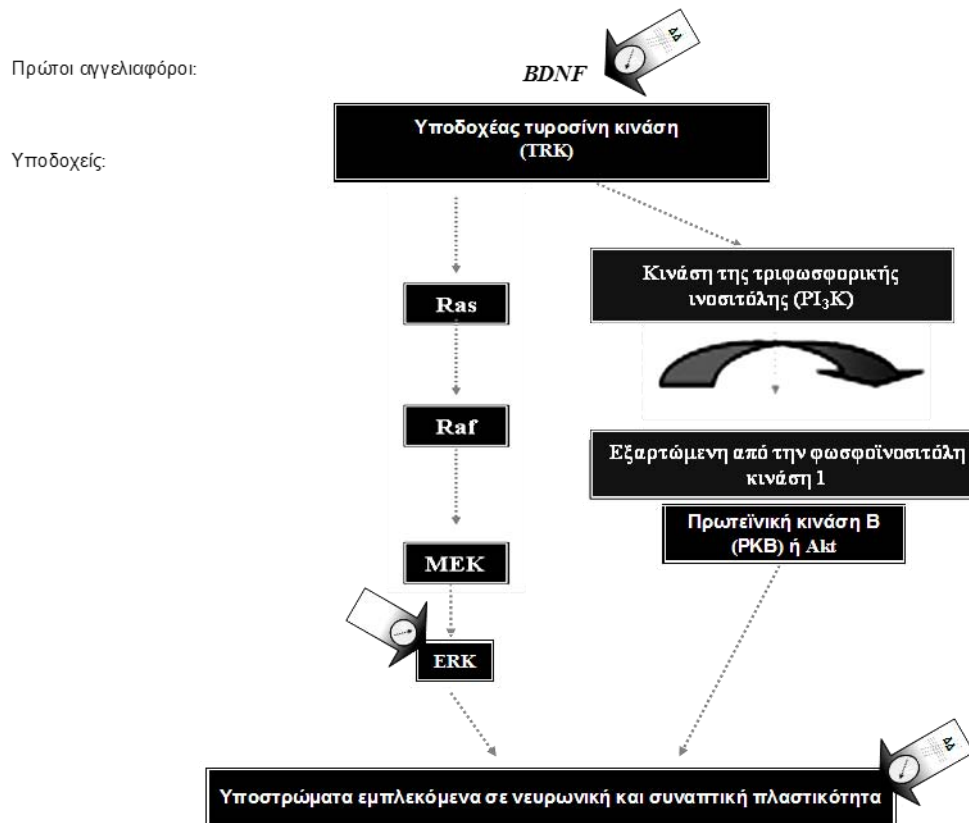
Πολλά είναι τα στοιχεία που στηρίζουν την εμπλοκή του BDNF στις διαταραχές του συναισθήματος και κυρίως στην κατάθλιψη. Μειωμένα επίπεδα του mRNA του BDNF στον ιππόκαμπο καθώς και νευρωνική ατροφία έχουν βρεθεί σε

μελέτες με ποικίλα ζωικά μοντέλα κατάθλιψης. Επιπλέον η κατάθλιψη έχει συσχετιστεί με μειωμένο όγκο ιππόκαμπου, ενώ μεταθανάτιες μελέτες σε καταθλιπτικούς ασθενείς υποδεικνύουν μειωμένα επίπεδα BDNF στον ιππόκαμπο. Επιπροσθέτως, η νευρογένεση στον ιππόκαμπο φαίνεται να είναι απαραίτητη για τις αντικαταθλιπτικές δράσεις των αντικαταθλιπτικών φαρμάκων. Προς τα κάτω ρύθμιση του BDNF έχει βρεθεί να αναστέλλει τις αντικαταθλιπτικές δράσεις φαρμάκων, ενώ τα επίπεδα του BDNF έχουν βρεθεί αυξημένα σε καταθλιπτικούς ασθενείς έπειτα από αγωγή με αντικαταθλιπτικά. Ωστόσο, υπάρχουν και αντικρουόμενα ευρήματα με αποτέλεσμα η θεωρία αυτή να έχει αμφισβητηθεί (Stein et al., 2008).

Στη ΔΔ, αυξημένα επίπεδα BDNF στο πλάσμα έχουν βρεθεί σε διπολικούς ασθενείς με διαταραχή τύπου I (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε15, Barbosa et al., 2010). Αντίθετα, η ομάδα του de Oliveira και των συνεργατών του, έδειξε μειωμένα επίπεδα BDNF στο πλάσμα σε διπολικούς ασθενείς με διαταραχή τύπου I που δεν βρίσκονται σε κάποια φαρμακευτική αγωγή κατά τη διάρκεια τόσο καταθλιπτικών όσο και μανιακών επεισοδίων (de Oliveira et al., 2009). Άλλες μελέτες έχουν δείξει μειωμένα επίπεδα BDNF περιφερικά²⁵ τόσο κατά το μανιακό όσο και κατά το καταθλιπτικό επεισόδιο και φυσιολογικά επίπεδα κατά τη φάση της ευθυμίας υποδεικνύοντας ότι τα περιφερικά επίπεδα BDNF θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιο-δείκτης των συναισθηματικών καταστάσεων και της πρόγνωσης της ΔΔ (Fernandes et al., 2011· Grande et al., 2010).

Τα σταθεροποιητικά της διάθεσης ασκούν σημαντική ρύθμιση στο BDNF (Nishino et al., 2011). Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν σημαντική αύξηση των επιπέδων του BDNF στο πλάσμα σε διπολικούς ασθενείς κατά το οξύ μανιακό επεισόδιο έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (de Sousa et al., 2011). Τέλος, άλλες μελέτες υποδεικνύουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των προφυλακτικών επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης λιθίου και των επιπέδων BDNF στο πλάσμα (Suwalska et al., 2010).

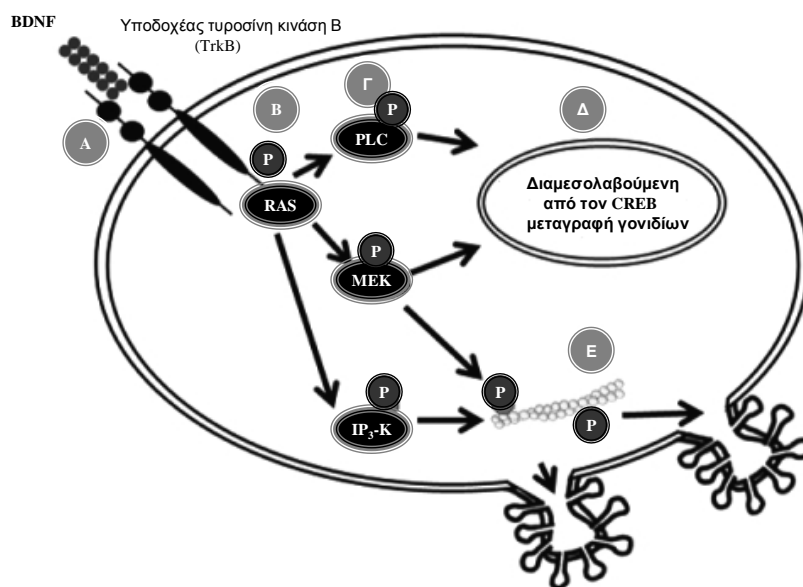
²⁵ Στο πλάσμα ή τον ορό



ΣΧΗΜΑ Ε15. Στοιχεία (elements) των ενδοκυττάρων μονοπατιών που ενεργοποιούνται από το BDNF και για τα οποία υπάρχουν αναφορές ότι δυσλειτουργούν στη ΔΔ και αποτελούν άμεσους ή έμμεσους στόχους δράσης του λιθίου. Το μονοπάτι παρουσιάζεται τροποποιημένο από τους Nestler et al., 2008. Τροποποίηση και προσαρμογή αναφορικά με τη ΔΔ και τις δράσεις του λιθίου με βάση τη βιβλιογραφία.

Όπως είδαμε παραπάνω, τα ενδοκυττάρια μονοπάτια που ρυθμίζονται από το BDNF εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της ΔΔ και αποτελούν στόχους δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης (βλ. ΣΧΗΜΑ Ε6). Ένα από τα ρυθμιζόμενα ενδοκυττάρια μονοπάτια είναι και αυτό της ERK το οποίο φαίνεται να ρυθμίζεται από τη χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης συμπεριλαμβανομένου του λιθίου. Η ενεργοποίηση της ERK προάγει τη νευρωνική διαφοροποίηση, επιβίωση, αναγέννηση και δομική και λειτουργική πλαστικότητα και έχει προταθεί ότι μπορεί να διαμεσολαβεί για τις αντιμανιακές δράσεις του λιθίου (Einat et al., 2003b). Επιπλέον, τα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης της αμφεταμίνης οδηγούν σε ταχεία αύξηση της φωσφορυλίωσης και ενεργοποίησης της ERK στον επικλινή πυρήνα. Απ'

την άλλη, αναστολή της ενεργοποίησης της ERK έχει συσχετιστεί με την πρόληψη της ανάπτυξης μακροχρόνιων συμπεριφορικών αλλαγών συμπεριλαμβανομένης της ψυχοκινητικής ευαισθητοποίησης (Girault et al., 2007).



ΣΧΗΜΑ E16. Τα ενδοκυττάρια μονοπάτια που ενεργοποιούνται από τον BDNF επάγουν τη δενδριτική εκβλάστηση. A. Ο BDNF προσδένεται στον υποδοχέα τυροσίνη κινάση B (TrkB) επάγοντας το διμερισμό του υποδοχέα. B. Η πρόσδεση του BDNF στον υποδοχέα οδηγεί στην αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα²⁶, οδηγώντας στη δημιουργία θέσεων πρόσδεσης για άλλες πρωτεΐνες. Γ. Η ενεργοποίηση του TrkB υποδοχέα οδηγεί στη διαβίβαση σήματος μέσω τριών κύριων ενδοκυττάρων μονοπατιών: το μονοπάτι των Ras-ενεργοποιούμενη από το μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (mitogen-activated protein kinase, MAPK), το μονοπάτι της κινάσης της τριφωσφορικής ινositόλης (phosphatidylinositol 3-kinase, PI₃K) –Akt και αυτό της φωσφολιπάσης C (PLC) -Ca²⁺. Όπως θα δούμε στη συνέχεια, τα μονοπάτια αυτά αποτελούν μοριακούς στόχους δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης και δυσλειτουργία των μονοπατιών αυτών έχει εμπλακεί στην παθοφυσιολογία της ΔΔ. Δ. Ενεργοποίηση της PLC οδηγεί σε απελευθέρωση ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο και στην ενεργοποίηση της CAMKII, έχοντας ως αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB και την ενεργοποίηση της μεταγραφής γονιδίων. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού της MAPK μπορεί επίσης να ρυθμίσει τη μεταγραφή μέσω της φωσφορυλίωσης του CREB. E. Τα μονοπάτια αυτά διαμεσολαβούν της

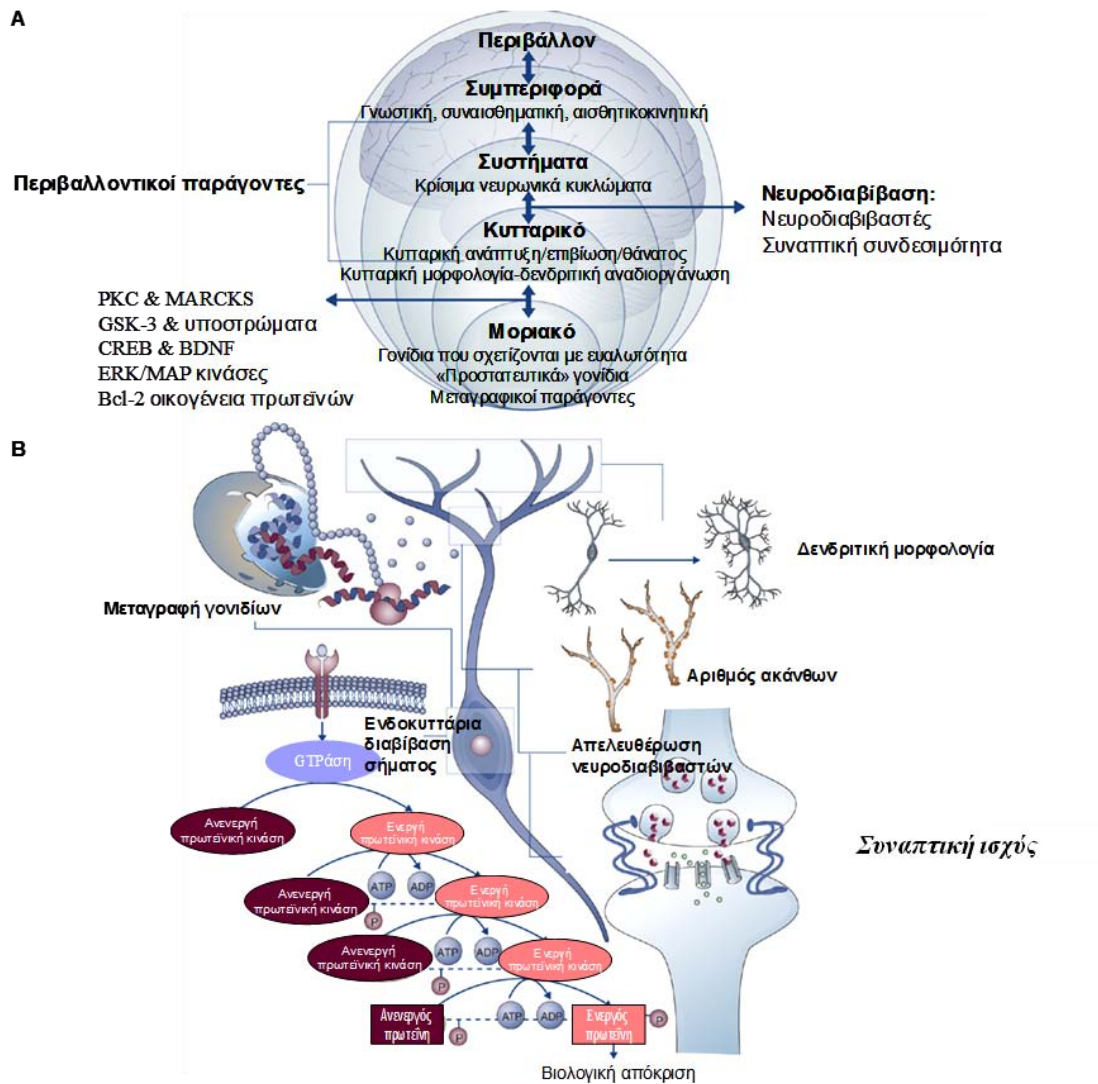
²⁶ Σε συγκεκριμένες τυροσίνες (Tyr)

ρύθμισης του BDNF στη δενδριτική μορφολογία. Ταυτόχρονη διέγερση των μονοπατιών της PI₃K και MAPK αλλάζει ταυτόχρονα τη δυναμική της ακτίνης και των μικροσωλινίσκων και τροποποιεί τις δενδριτικές διακλαδώσεις (Μεταφρασμένο από Grande et al., 2010).

Συμπερασματικά, το μονοπάτι των BDNF και ERK φαίνεται να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της ΔΔ καθώς υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι μπορεί να ρυθμίζει μανιακές συμπεριφορές τόσο σε πειραματόζωα όσο και στον άνθρωπο (Einat et al., 2003c). Υπό το πρίσμα της υπόθεσης των ελλειμμάτων νευρωνικής πλαστικότητας στις συναισθηματικές διαταραχές, η εμπλοκή του μονοπατιού αυτού στη ΔΔ χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

3. Η υπόθεση της πλαστικότητας για τις συναισθηματικές διαταραχές. Όλο και περισσότερα δεδομένα στηρίζουν την υπόθεση της δομικής και λειτουργικής πλαστικότητας για τις συναισθηματικές διαταραχές (Szabo et al., 2009· Quiroz et al., 2008· Schloesser et al., 2008· Svenningsson et al., 2007· Du et al., 2004). Σύγχρονες θεωρίες για τη ΔΔ υποστηρίζουν την ύπαρξη δυσλειτουργιών σε επίπεδο συναπτικής και νευρωνικής πλαστικότητας που οδηγούν σε παρεκκλίνουσα επεξεργασία πληροφοριών σε κρίσιμες συνάψεις και κυκλώματα. Επιπροσθέτως, οι ευρέως χρησιμοποιούμενες φαρμακοθεραπείες στη ΔΔ, τα σταθεροποιητικά της διάθεσης, επηρεάζουν ενδοκυττάρια μονοπάτια τα οποία ρυθμίζουν την συναπτική πλαστικότητα. Έτσι, φαίνεται ότι οι συναισθηματικές διαταραχές μπορούν να γίνουν καλύτερα αντιληπτές ως γενετικά επηρεασμένες διαταραχές συνάψεων και κυκλωμάτων παρά ως απλή δυσλειτουργία ενός νευροδιαβιβαστικού συστήματος (Schloesser et al., 2008).

Ο όρος πλαστικότητα αναφέρεται στην ικανότητα επαγωγής και διατήρησης αλλαγής και αποτελεί μείζον προαπαιτούμενο χαρακτηριστικό για τη διατήρηση της λειτουργικότητας του ΚΝΣ (Quiroz et al., 2008· Schloesser et al., 2008). Η ικανότητα αλλαγής προσφέρει ουσιαστικά στον οργανισμό ένα μηχανισμό απόκρισης σε ποικίλα εσωτερικά και εξωτερικά/περιβαλλοντικά ερεθίσματα, που αποτελεί θεμελιώδες χαρακτηριστικό της επιβίωσης (Schloesser et al., 2008). Η αντιμετώπιση ενός νέου ερεθίσματος για πρώτη φορά οδηγεί στην έκλυση μιας συμπεριφοράς ενώ η μετέπειτα αποκρίσεις στο ίδιο ερέθισμα μπορεί να αλλάξουν για ένα χρονικό διάστημα λεπτών, ή ωρών (Blundon & Zakharenko, 2008).



ΣΧΗΜΑ E17. Επίπεδα ανάπτυξης πλαστικότητας. Α. Η ακριβής κατανόηση της παθοφυσιολογίας της ΔΔ περιλαμβάνει διαφορετικά συστήματα σε διαφορετικά επίπεδα στα οποία εκδηλώνεται η διαταραχή, από το επίπεδο της συμπεριφοράς μέχρι το κυτταρικό και το μοριακό επίπεδο. Η ολοκλήρωση των γνώσεών μας σε πολλαπλά φυσιολογικά και φαινομενολογικά επίπεδα δίνει τη δυνατότητα καλύτερης κατανόησης της αιτιολογίας και της παθοφυσιολογίας της ΔΔ. Β. Βιολογικοί μηχανισμοί που υπόκεινται της νευρωνικής πλαστικότητας. Αξιοσημείωτη πλαστικότητα σε νευρωνικά κυκλώματα επιτυγχάνεται μέσω διαφορετικών βιολογικών μηχανισμών που περιλαμβάνουν αλλαγές στη γονιδιακή μεταγραφή και σε ενδοκυττάρια μονοπάτια διαβίβασης σήματος. Αυτές οι αλλαγές ρυθμίζουν ποικίλες νευρωνικές ιδιότητες όπως η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, η συναπτική λειτουργία ακόμα και μορφολογικά χαρακτηριστικά των νευρώνων (Μεταφρασμένο από Schloesser et al., 2008).

Πέραν της αποδεδειγμένης σημασίας των μηχανισμών πλαστικότητας στη μάθηση, τη μνήμη και τη φυσιολογική ομοιόσταση, όλα τα πολύπλοκα συμπεριφορικά φαινόμενα συμπεριλαμβανομένων των συναισθημάτων είναι δυναμικές διεργασίες που εξαρτώνται από την πλαστικότητα νευρωνικών κυκλωμάτων (Schloesser et al., 2008). Η βιολογική βάση της ικανότητας προσαρμογής σχετίζεται με ποικίλους κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς που εμπίπτουν στον ευρύτερο όρο νευρωνική πλαστικότητα (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε17, Quiroz et al., 2008· Schloesser et al., 2008). Με τον όρο αυτό αναφερόμαστε σε αλλαγές σε επίπεδο ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος, ρύθμισης γονιδίων, ρυθμίσεις στον αριθμό και τη δυναμικότητα των συνάψεων, διακυμάνσεις στην απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, αναδιάρθρωση της νευραξονικής και δενδριτικής αρχιτεκτονικής και σε μερικές περιοχές του εγκεφάλου γένεση νέων νευρώνων. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι είτε βραχυπρόθεσμες είτε μακροπρόθεσμες σε συνάρτηση με τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του ερεθίσματος αλλά και το χρόνο παρουσίας του. Έτσι ένα οξύ ερέθισμα μπορεί να έχει πολύ διαφορετικές επιδράσεις σε σχέση με ένα χρόνιο, επαναλαμβανόμενο ερέθισμα τόσο ποιοτικά όσο και ως προς τη δυναμική πρόκλησης μακρόχρονων αλλαγών. Επιπροσθέτως, ερεθίσματα που εμφανίζονται κατά την φάση ανάπτυξης του ΚΝΣ είναι πιθανό να έχουν διαφορετικές επιδράσεις στον οργανισμό σε σχέση με την εμφάνισή τους στον ενήλικο εγκέφαλο.

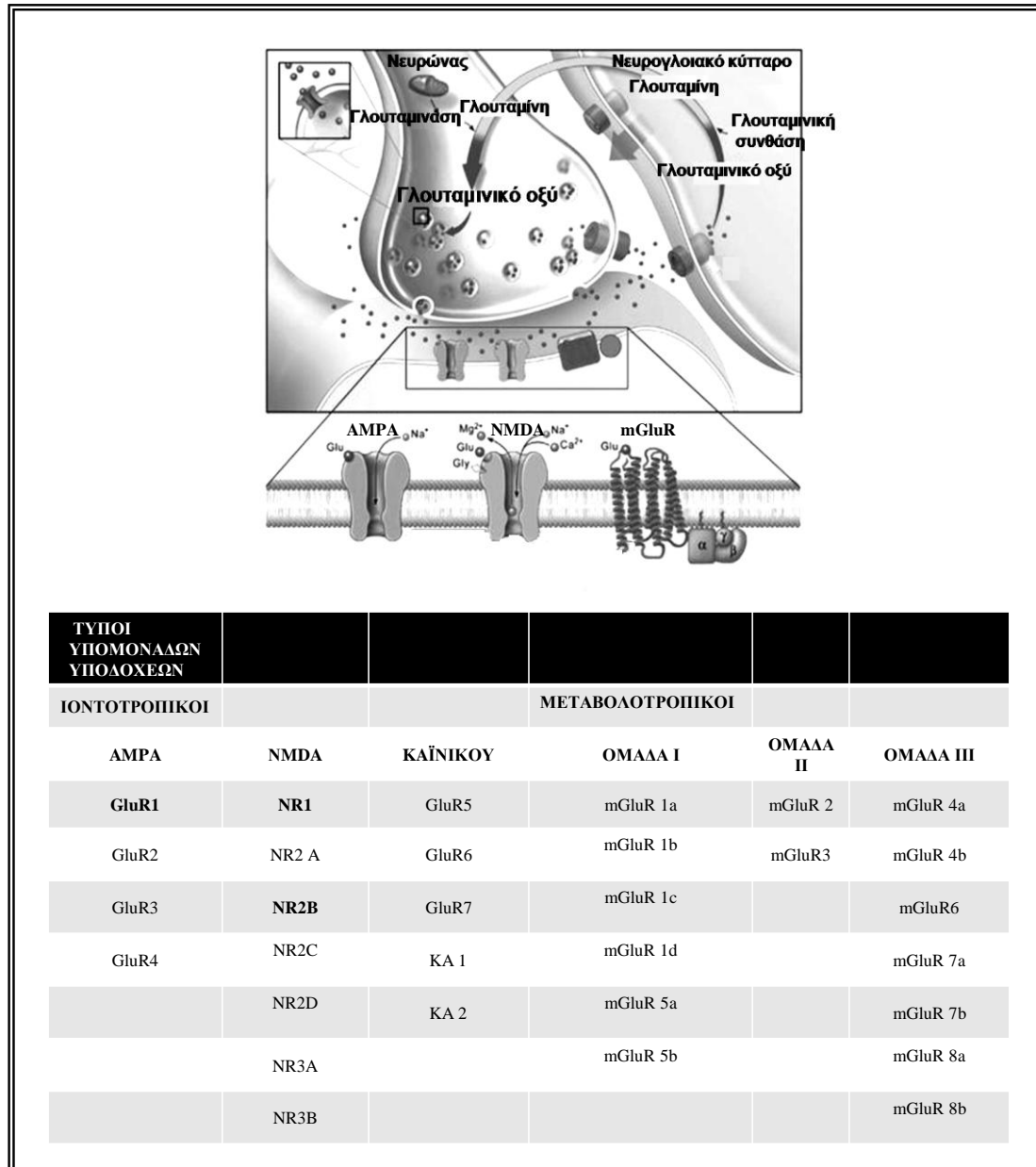
Η συναπτική πλαστικότητα αναφέρεται σε κυτταρικές διεργασίες που οδηγούν σε αλλαγές στην αποτελεσματικότητα της συναπτικής διαβίβασης. Ουσιαστικά η συναπτική πλαστικότητα αναφέρεται στην διακύμανση της ισχύος του σήματος που μεταδίδεται μέσω των υπαρχουσών συνάψεων (Citri & Malenka, 2008· Schloesser et al., 2008). Η ρύθμιση αυτή μπορεί να επιτευχθεί μέσω αλλαγών των επιπέδων των νευροδιαβιβαστών, μέσω φωσφορυλίωσης υπομονάδων υποδοχέων, μέσω της διακίνησης των υποδοχέων από και προς την πλασματική μεμβράνη, μέσω αλλαγών στην αγωγιμότητα διαύλων και άλλους σχετιζόμενους μηχανισμούς (Schloesser et al., 2008).

3.1. Γλουταμινεργικό Σύστημα και πλαστικότητα. Οι γλουταμινεργικές συνάψεις παίζουν μείζονα ρόλο σε εγκεφαλικές λειτουργίες και διαταραχές (Zhuo, 2009; Lee et al., 2006). Το γλουταμινικό οξύ εντοπίζεται στο 60% του συνολικού αριθμού των εγκεφαλικών συνάψεων των θηλαστικών αποτελώντας τον κύριο διεγερτικό νευροδιαβιβαστή του ΚΝΣ (Mathew et al., 2008) και έχει αποδειχτεί ότι παίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας. Οι γλουταμινεργικοί υποδοχείς διαχωρίζονται σε ιοντοτροπικούς και μεταβολοτροπικούς. Στους ιοντοτροπικούς υποδοχείς περιλαμβάνονται οι N-μέθυλ-D-ασπαρτικού (NMDA), οι υποδοχείς α-αμινο-3-υδροξύ-5-μέθυλο-4-ισοξαζόλοπροπιονικό οξύ (α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate, AMPA) καθώς και οι υποδοχείς του καϊνικού, ενώ στους μεταβολοτροπικούς υποδοχείς περιλαμβάνονται οι mGluR οι οποίοι διαχωρίζονται λειτουργικά σε τρεις υπό-ομάδες (mGluR ΟΜΑΔΑ I-III) (Βλ. ΣΧΗΜΑ E18).

Νεότερα ερευνητικά δεδομένα συνηγορούν στην εμπλοκή του γλουταμινεργικού συστήματος²⁷ στην παθοφυσιολογία των διαταραχών συναισθήματος ενώ ποικίλα προκλινικά και κλινικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι αποτελεί άμεσο και έμμεσο στόχο ποικίλων θεραπευτικών αγωγών συμπεριλαμβανομένων των αντικαταθλιπτικών, των σταθεροποιητικών της διάθεσης, των άτυπων αντιψυχωσικών καθώς και της ηλεκτροσπασμοθεραπείας. Επιπροσθέτως, η ριλουζόλη (riluzole) που ρυθμίζει τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση παρουσιάζει αντικαταθλιπτικές δράσεις τόσο στη μονοπολική όσο και στη διπολική κατάθλιψη (Du et al., 2004).

Τα τελευταία χρόνια, μεγάλο μέρος του ερευνητικού ενδιαφέροντος γύρω από τη σχετική με το γλουταμινεργικό σύστημα πλαστικότητα, έχει εστιαστεί στις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των γλουταμινεργικών υποδοχέων, καθώς σχεδόν όλοι οι γλουταμινεργικοί υποδοχείς και οι υπότυποί τους υπόκεινται ενεργούς φωσφορυλίωσης σε σερίνες, θρεονίνες ή τυροσίνες που εντοπίζονται στα ενδοκυττάρια τμήματά (domain) τους. Χαρακτηριστικό των τροποποιήσεων αυτών είναι η δυναμική και αναστρέψιμη φύση τους (Mao et al., 2011).

²⁷ το οποίο κατέχει μείζονα ρόλο στη νευρωνική πλαστικότητα



ΣΧΗΜΑ E18. Ρύθμιση γλουταμινεργικής νευροδιαβίβασης και γλουταμινεργικοί υποδοχείς. Αρχικά, τα νευρογλοιακά κύτταρα απελευθερώνουν γλουταμίνη η οποία προσλαμβάνεται από το νευρώνα και μεταβολίζεται σε γλουταμινικό οξύ από το μιτοχονδριακό ένζυμο γλουταμινάση. Το νέο-συντεθειμένο γλουταμινικό οξύ πακετάρεται σε κυστίδια από τον κυστιδικό μεταφορέα του γλουταμινικού οξέος (Vesicular Glutamate Transporter, VGLUT). Τα κυστίδια μεταφέρονται στις τελικές απολήξεις όπου και γίνεται η απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος στη συναπτική σχισμή. Το γλουταμινικό οξύ θα δράσει τόσο σε ιονοτροπικούς (AMPA, NMDA, καϊνικού) όσο και σε μεταβολοτροπικούς υποδοχείς (mGluR). Το γλουταμινικό οξύ που παραμένει στην σύναψη επαναπροσλαμβάνεται από τα κύτταρα γλοίας και μετατρέπεται και πάλι σε γλουταμίνη από το ένζυμο γλουταμινική συνθάση. Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται όλοι οι τύποι και

υπότυποι γλουταμινεργικών υποδοχέων καθώς και οι υπομονάδες από τις οποίες δυνητικά αποτελούνται (Τροποποιημένο από Du et al., 2004).

3.1.1. Σύσταση NMDA υποδοχέων. Οι NMDA υποδοχείς είναι επίσης ιοντοτροπικοί υποδοχείς που εντοπίζονται στις διεγερτικές συνάψεις του εγκεφάλου (Gao & Wolf, 2007· Lau & Zukin, 2007· Lin et al., 2006). Χαρακτηρίζονται από υψηλή διαπερατότητα σε Ca^{2+} . Η εισροή Ca^{2+} είναι μείζονος σημασίας για την συναπτογένεση, την εξαρτώμενη από την εμπειρία συναπτική αναμόρφωση καθώς και μακροχρόνιες αλλαγές στη συναπτική αποτελεσματικότητα όπως η LTP και LTD (Lau & Zukin, 2007). Η ενεργοποίηση του NMDA υποδοχέα απαιτεί, πέρα από την πρόσδεση του γλουταμινικού, την εκπόλωση της μεμβράνης για την μετακίνηση του Mg^{2+} που αποκλείει το δίαυλο καθώς και την πρόσδεση του συναγωνιστή γλυκίνη (Kumar, 2011).

Κάθε υποδοχέας είναι ένα τετραμερές αποτελούμενο από NR1, NR2 και NR3 υπομονάδες που συναθροίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο για να σχηματίσουν λειτουργικούς διαύλους με διαφορετικές φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες ανάλογα με τη σύστασή τους (Lau & Zukin, 2007). Τα λειτουργικά τετραμερή NMDA υποδοχέων αποτελούνται υποχρεωτικά από τουλάχιστον μία NR1 υπομονάδα και διαφορετικές NR2 υπομονάδες. Η σύσταση του NMDA υποδοχέα σε NR2 υπομονάδες καθορίζει τις βιοφυσικές και φαρμακολογικές ιδιότητές του (Cull-Candy & Leszkiewicz, 2004· Alvestad et al., 2003) και μπορεί να επηρεάσει την συνάθροιση τους²⁸, την προς τα κάτω σηματοδότηση, τη διακίνηση τους καθώς και τη συναπτική «στόχευση» (Lau & Zukin, 2007). Επιπρόσθετη ποικιλία πηγάζει από εναλλακτικό RNA «ματισμα» (splicing) της NR1 υπομονάδας (Lau & Zukin, 2007· Zukin & Bennett, 1995). Η παρουσία NR3 υπομονάδων σχετίζεται με μειωμένη διαπερατότητα σε Ca^{2+} αλλά και υποδοχείς που περιλαμβάνουν την υπομονάδα αυτή δεν εκφράζονται τόσο συχνά στη σύναψη (Lau & Zukin, 2007).

Η NR1 υπομονάδα αποτελεί την θέση πρόσδεσης του συν-αγωνιστή γλυκίνη ενώ η θέση πρόσδεσης του γλουταμινικού οξέος είναι στην NR2B υπομονάδα (Liao et al., 2001). Οι NR2A και NR2B υπομονάδες είναι οι κύριες NR2 υπομονάδες στους νευρώνες του φλοιού. Στις περισσότερες ώριμες συνάψεις των περισσότερων

²⁸ των NMDA υποδοχέων

εγκεφαλικών περιοχών, οι NMDA υποδοχείς είναι πιθανότερο να αποτελούνται από NR1/NR2B, NR1/NR2A και NR1/NR2A/ NR2B υπομονάδες (Gao & Wolf, 2007· Cull-Candy & Leszkiewicz, 2004). Κατά τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης οι NMDA υποδοχείς αποτελούνται κατά βάση από NR2B υπομονάδες, ενώ όσο ωριμάζουν οι νευρώνες, προοδευτικά περιλαμβάνουν και NR2A υπομονάδες στους συναπτικούς NMDA υποδοχείς (Lin et al., 2006).

ΠΙΚΑΝΑΣ Ε4.
Χαρακτηριστικά υπομονάδων NMDA υποδοχέων

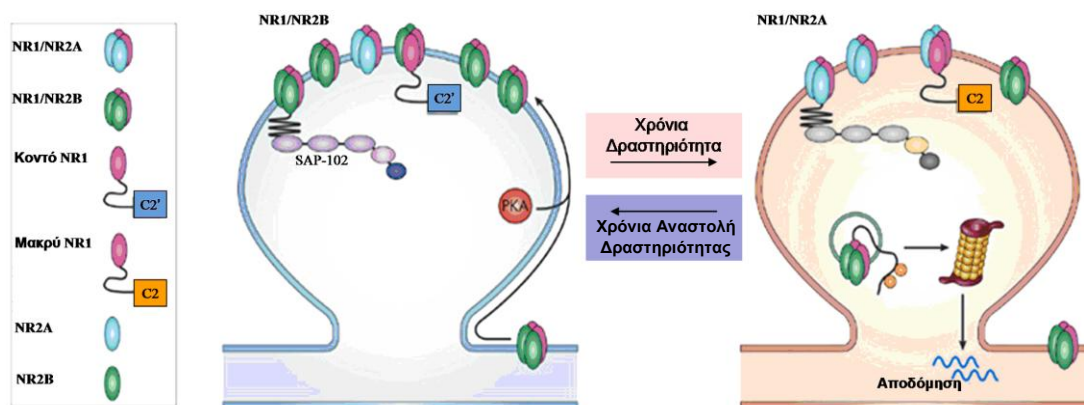
ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ NMDA ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ
NR1	Τουλάχιστον μία NR1 υπομονάδα σε κάθε NMDA υποδοχέα
NR2 A	Μικρότερη συγγένεια για το γλουταμινικό οξύ, ταχύτερη κινητική, μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι ανοιχτός ο δίαυλος, πιο επιρρεπής στην Ca ²⁺ εξαρτώμενη απευαισθητοποίηση σε σχέση με την NR2B υπομονάδα.
NR2B	Παρέχει πιο αργή κινητική στο δίαυλο και μειωμένη πιθανότητα να είναι ανοιχτός.
NR2C	Χαμηλή αγωγιμότητα ανοιγμάτων και μειωμένη ευαισθησία στο μπλοκάρισμα Mg ²⁺
NR2D	Χαμηλή αγωγιμότητα ανοιγμάτων και μειωμένη ευαισθησία στο μπλοκάρισμα Mg ²⁺
NR3	Μειωμένη διαπερατότητα σε Cs ²⁺ , μειωμένη έκφραση στην περιοχή της σύναψης

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τόσο ο αριθμός όσο και η σύσταση των NMDA υποδοχέων από υπομονάδες δεν είναι κάτι στατικό αλλά μεταβάλλεται τόσο στο κύτταρο όσο και στη σύναψη όχι μόνο κατά την ανάπτυξη αλλά και ως απόκριση στη νευρωνική δραστηριότητα και τις αισθητικές εμπειρίες. Η νευρωνική δραστηριότητα δεν επηρεάζει μόνο την προσάρτηση των NMDA υποδοχέων στη σύναψη αλλά επίσης και την ανάκτηση των υποδοχέων, τη διαφοροποίηση στη διαλογή στο μονοπάτι ενδοσώματος-λυσσωσώματος καθώς και την πλευρική διάχυση μεταξύ συναπτικών και περιοχών πέρα απ' τη σύναψη (Lau & Zukin, 2007).

Οι συναπτικοί NMDA υποδοχείς εντοπίζονται σε μετασυναπτικές πυκνότητες (postsynaptic densities, PSDs) διεγερτικών συνάψεων, όπου είναι δομικά οργανωμένοι σε μεγάλα μεγαλομοριακά μηνυματοφόρα σύμπλοκα αποτελούμενα από

πρωτεΐνες που λειτουργούν ως σκαλωσιές (scaffolding) και πρωτεΐνες προσαρμογής (adaptor) οι οποίες συνδέουν τους υποδοχείς με κινάσες, φωσφοπρωτεΐνες, φωσφατάσες και άλλα μηνυματοφόρα μόρια (Clapp et al., 2010; Lau & Zukin, 2007; Lin et al., 2006). Οι συναπτικές πρωτεΐνες που λειτουργούν ως σκαλωσιές ρυθμίζουν τη διακίνηση του υποδοχέα και τη «σταθεροποίησή» του σε συναπτικές θέσεις ενώ ρυθμίζουν και τη λειτουργία του (Lin et al., 2006).

Η συναπτική δραστηριότητα επηρεάζει τη μοριακή σύσταση της μετασυναπτικής πυκνότητας (Βλ. ΣΧΗΜΑ E19). Πιο συγκεκριμένα, η χρόνια αναστολή της νευρωνικής δραστηριότητας προάγει εναλλακτικό RNA «μάτισμα» της NR1 υπομονάδας και επιταχύνει την διακίνηση των NR1/NR2B NMDA υποδοχέων στη σύναψη. Αντίθετα, η χρόνια νευρωνική δραστηριότητα οδηγεί σε ενδοκυττάρωση²⁹ και αποικοδόμηση του υποδοχέα μέσω του συστήματος ουμπικουιτίνης-πρωτεασώματος (Lau & Zukin, 2007).



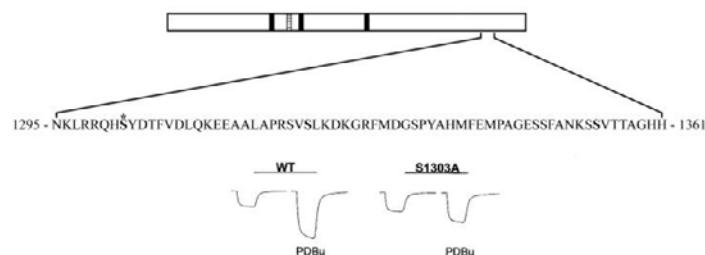
ΣΧΗΜΑ E19. Η συναπτική δραστηριότητα ρυθμίζει τη μοριακή σύσταση της μετασυναπτικής πυκνότητας. Η χρόνια αναστολή της νευρωνικής δραστηριότητας προάγει εναλλακτικό «μάτισμα» από το εξόνιο C2 στο εξόνιο C2' της NR1 υπομονάδας και επιταχύνει την διακίνηση των NMDA υποδοχέων στη σύναψη, ενώ η χρόνια νευρωνική δραστηριότητα οδηγεί σε ενδοκυττάρωση και αποικοδόμηση του υποδοχέα μέσω του συστήματος ουμπικουιτίνης-πρωτεασώματος (Μεταφρασμένο από Lau & Zukin, 2007).

Η πρωτεϊνική φωσφορυλίωση έχει αναγνωριστεί ως ένας μείζονος σημασίας κυτταρικός μηχανισμός στη ρύθμιση της λειτουργίας των NMDA υποδοχέων (Westphal et al., 1999), ενώ η αυξημένη φωσφορυλίωση μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη λειτουργία του υποδοχέα. Έχουν ταυτοποιηθεί πολλές θέσεις

²⁹ κυρίως υποδοχέων αποτελούμενων από NR1/NR2B υπομονάδες

φωσφορυλίωσης των υπομονάδων των NMDA υποδοχέων σε σερίνες/θρεονίνες αλλά και τυροσίνες όπως είναι και η Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας που φωσφορυλιώνεται από την PKA αλλά και η Ser⁸⁹⁰ και Ser⁸⁹⁶ που φωσφορυλιώνεται από την PKC ενώ η Ser¹³⁰³ της NR2B υπομονάδας φωσφορυλιώνεται από τις CaMKII και PKC. Επιπροσθέτως η Src οικογένεια κινάσων της τυροσίνης φωσφορυλιώνει την NR2B υπομονάδα στις Tyr¹³³⁶ και Tyr¹⁴⁷² (Hsieh et al., 2009).

Η PKC ρυθμίζει μέσω φωσφορυλίωσης τη μέγιστη ροή ρεύματος NMDA υποδοχέων. Η επαγόμενη από την PKC αύξηση της ροής παρατηρείται κυρίως σε υποδοχείς που εκφράζουν την NR2A ή NR2B υπομονάδα αλλά είναι απύσα σε υποδοχείς που αποτελούνται από NR2C ή NR2D υπομονάδες. Στη ρύθμιση αυτή σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³ και στη Ser¹³²³. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από μελέτες μετάλλαξης των αμινοξέων αυτών όπου αντικατάσταση είτε της Ser¹³⁰³ είτε της Ser¹³²³ μειώνει σημαντικά την επαγόμενη από την PKC διευκόλυνση του ρεύματος (Βλ. ΣΧΗΜΑ E20, Liao et al., 2001). Έτσι, η φωσφορυλίωση στις θέσεις αυτές της NR2B υπομονάδας φαίνεται ότι διευκολύνει τα ρεύματα μέσω NMDA υποδοχέων (Salter et al., 2009).



ΣΧΗΜΑ E20. Η Ser¹³⁰³ στο C-τελικό άκρο της NR2B υπομονάδας ρυθμίζει τη διευκόλυνση των ρευμάτων του NMDA που διαμεσολαβείτε από την PKC. Μετάλλαξη της Ser¹³⁰³ σε Ala μειώνει σημαντικά τη διευκόλυνση που επάγεται από την PKC. Οι καταγραφές έγιναν πριν και μετά την έκθεση στον ενεργοποιητή της PKC, PDBu (20nM για 10 λεπτά) (από Liao et al., 2001).

3.1.1.1. Διακίνηση (trafficking) NMDA υποδοχέων. Η ρύθμιση της διακίνησης των NMDA υποδοχέων είναι μείζονος σημασίας για την συναπτική διαβίβαση και πλαστικότητα (Yan et al., 2011· Lin et al., 2006). Οι νέο-συντιθέμενοι NMDA υποδοχείς μεταφέρονται στη σύναψη έπειτα από τη σύνθεσή τους στο

ενδοπλασματικό δίκτυο. Τμήματα (domains) που ρυθμίζουν τη διανομή και την ανάκληση των NMDA υποδοχέων στη σύναψη έχουν εντοπιστεί στο C-τελικό άκρο των NR1 υπομονάδων. Μακρύτερες NR1 υπομονάδες παραμένουν στο ενδοπλασματικό δίκτυο εξαιτίας της παρουσίας του σήματος διατήρησης ενδοπλασματικού δικτύου (Endoplasmatic Reticulum Retention Signal-RRR) στην C1 κασέτα που αποτελεί προϊόν εναλλακτικού «ματίσματος», λειτουργώντας έτσι ως μηχανισμός ελέγχου ποιότητας. Η φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας κοντά στο σήμα RRR από την PKC (στις Ser⁸⁹⁰ και Ser⁸⁹⁶) και την PKA (στη Ser⁸⁹⁷) προάγει την διακίνηση των NMDA υποδοχέων στην πλασματική μεμβράνη (Lau & Zukin, 2007).

Κατά τη συνδεσμολογία των υπομονάδων του υποδοχέα, η πρόσδεση της NR2 υπομονάδας καλύπτει το σήμα διατήρησης της NR1 υπομονάδας και προάγει τη διακίνηση του ετεροδιμερούς προς την κυτταρική επιφάνεια μέσω ενός εκκριτικού μονοπατιού. Συναπτικές πρωτεΐνες³⁰ που λειτουργούν ως σκαλωσιές προάγουν την διακίνηση αυτή. Αντίθετα, μη «συνδεσμολογημένες» NR1 υπομονάδες παρουσιάζουν μικρή ή καθόλου επιφανειακή έκφραση και διατηρούνται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Lau & Zukin, 2007).

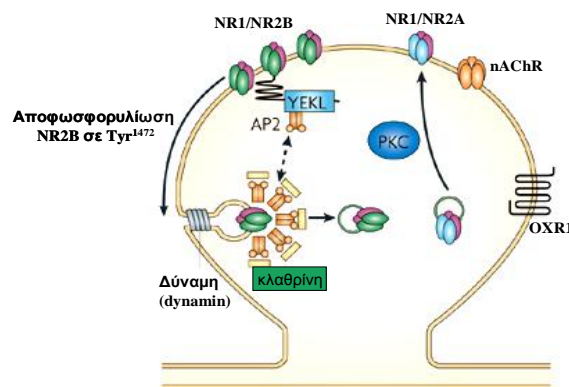
Η PKC προάγει τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη μέσω της αλληλεπίδρασής της με τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με τους NMDA υποδοχείς (NMDAR-associated proteins, NAP) (Yan et al., 2011). Μάλιστα, πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η CaMKII έχει ρόλο NAP, διαμεσολαβώντας τη διευκόλυνση της διακίνησης των NMDA υποδοχέων από την PKC. Πιο συγκεκριμένα, η PKC φαίνεται ότι προάγει την αυτοφωσφορυλίωση της CaMKII, οδηγώντας σε αυξημένη αλληλεπίδραση με τους NMDA υποδοχείς, οδηγώντας σε λειτουργική εισαγωγή των NMDA υποδοχέων στην επιφάνεια του μετασυναπτικού κυττάρου (Yan et al., 2011).

Η ενδοκυττάρωση πιστεύεται ότι συμβαίνει με πλευρική διάχυση των υποδοχέων μακριά από τη σύναψη σε ενδοκυτταρικές ζώνες. Τα μηνύματα ενδοκυττάρωσης στις NR2A και NR2B υπομονάδες προσδένουν την κλαθρίνη και

³⁰ Συγκεκριμένα η SAP-102 προσδένεται άμεσα μέσω ενός πεδίου (domain) PDZ στην πρωτεΐνη SEC8 που αποτελεί μέλος του εξωκυστιδικού (exocyst) συμπλόκου. Η αλληλεπίδραση της SAP-102 με την NR2B υπομονάδα επιτρέπει στο εξωκυστιδικό σύμπλοκο να αναγνωρίσει τους νέο-συντιθέμενους NMDA υποδοχείς ως κυστιδικά φορτία και να τους μεταφέρουν στη σύναψη (Lau & Zukin, 2007).

την πρωτεΐνη προσαρμογής 2 (Adaptor Protein 2, AP2) και δίνουν το έναυσμα για την εξαρτώμενη από κλαθρίνη ενδοκυττάρωση. Η σύσταση του υποδοχέα καθορίζει την περαιτέρω εξέλιξή του καθώς οι υποδοχείς που περιέχουν την NR2A υπομονάδα κατά βάση αποικοδομούνται ενώ οι υποδοχείς που περιέχουν την NR2B υπομονάδα ανακυκλώνονται. Αντίθετα, μηνύματα εγγύς της μεμβράνης τόσο στις NR1 όσο και τις NR2A/B υπομονάδες οδηγούν σε άμεση ενδοκυττάρωση και αποικοδόμηση στα ενδοσώματα (Lau & Zukin, 2007).

Η Fyn-εξαρτώμενη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας εμπλέκεται στην διακίνηση των NMDA υποδοχέων και στη συναπτική πλαστικότητα (Lau & Zukin, 2007). Η αποφωσφορυλίωση της Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας προάγει την ενδοκυττάρωση του υποδοχέα (Βλ. ΣΧΗΜΑ E21, Goebel-Goody et al., 2009· Lau & Zukin, 2007) μέσω επικαλυμμάτων κλαθρίνης (Lau & Zukin, 2007) ενώ η φωσφορυλίωση της θέσης αυτής αναστέλλει την ενδοκυττάρωση των υποδοχέων, προάγει την παρουσία τους στη σύναψη (Goebel-Goody et al., 2009) και διευκολύνει τη δραστηριότητα των NMDA υποδοχέων (Goebel et al., 2005). Τέλος, η ενεργοποίηση της PKC αυξάνει την προσάρτηση των NMDA υποδοχέων στην σύναψη (Lau & Zukin, 2007).



ΣΧΗΜΑ E21. Αποφωσφορυλίωση της Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας των NR1/NR2B NMDA υποδοχέων οδηγεί σε ενδοκυττάρωσή τους μέσω επικαλυμμάτων κλαθρίνης. Η χωρική οργάνωση της κλαθρίνης, της AP2 και της δύναμης³¹ υποδεικνύει ότι οι NMDA υποδοχείς μπορούν να προσδεθούν στην AP2 προτού μεταφερθούν σε πλευρικά σημεία ενδοκυττάρωσης. Είναι πιθανό, χωρίς να έχει ακόμα ταυτοποιηθεί, ότι υπάρχουν εξειδικευμένες ζώνες εξωκυττάρωσης, οι οποίες είναι οργανωμένες επίσης πλευρικά στις συνάψεις. Επιπλέον, οι εκκολλαπτόμενοι υποδοχείς προσαρτώνται στη μεμβράνη

³¹GTPάση- ένζυμο υδρολάση που εμπλέκεται στην τομή των καλυμμένων με κλαθρίνη κυστιδίων από την πλασματική μεμβράνη

περισυναπτικά ενώ ακολουθεί πλευρική διάχυση στην μετασυναπτική ζώνη πυκνότητας όπου και «αγκυροβολούν» μέσω συναπτικών πρωτεϊνών που λειτουργούν σαν σκαλωσιές. Η πλευρική αυτή κίνηση έχει ταυτοποιηθεί για τους αυθόρμητα ανακυκλούμενους AMPA υποδοχείς μέσα και έξω από τη συναπτική περιοχή. nAChR, νικοτινικός υποδοχέας ακετυλοχολίνης· OXR1, υποδοχέας ορεξίνης 1 (Lau & Zukin, 2007).

Τέλος, η φωσφορυλίωση της Tyr¹⁴⁷² φαίνεται ότι απαιτείται και για τον κατάλληλο εντοπισμό των NMDA που περιέχουν την NR2B υπομονάδα (Lau & Zukin, 2007). Ποντίκια με knock-in³² μετάλλαξη της Tyr¹⁴⁷² σε Phe (Tyr1472Phe) παρουσιάζουν διαταραχές στον εντοπισμό των NR2B υπομονάδων και παρεμποδισμένη σηματοδότηση των NMDA υποδοχέων μέσω της CaMKII καθώς και εξασθενημένη LTP (Matsumura et al., 2010).

3.1.2. Σύσταση AMPA υποδοχέων. Η κύρια διεγερτική, ταχεία συναπτική διαβίβαση στο ΚΝΣ χρησιμοποιεί το γλουταμινικό οξύ ως κύριο νευροδιαβιβαστή το οποίο δρα σε ποικίλους μετασυναπτικούς ιοντοτροπικούς γλουταμινικούς υποδοχείς. Στις περισσότερες συνάψεις του ΚΝΣ, οι AMPA υποδοχείς διαμεσολαβούν την πλειονότητα της βασικής συναπτικής διαβίβασης, ενώ οι NMDA υποδοχείς ενεργοποιούνται υπό συνθήκες που παράγουν σημαντική μετασυναπτική εκπόλωση και οι υποδοχείς καϊνικού μπορούν να συμμετέχουν στην συναπτική διαβίβαση σε συγκεκριμένες συνάψεις έχοντας ρυθμιστικό ρόλο (Du et al., 2004).

Οι AMPA υποδοχείς είναι τετραμερή αποτελούμενα από συνδυασμούς τεσσάρων διαφορετικών GluR1, GluR2, GluR3 και/ή GluR4 υπομονάδων. Οι διαφορετικές υπομονάδες παρουσιάζουν διαφορετική χωρική και χρονική διανομή στον εγκέφαλο και η παρουσία της εκάστοτε υπομονάδας προσδίδει στο σύμπλοκο του AMPA υποδοχέα διαφορετικά χαρακτηριστικά. Για παράδειγμα, η GluR2 υπομονάδα προλαμβάνει την διαπερατότητα του ιοντικού διαύλου σε Ca²⁺ και συμβάλλει στην ρύθμιση της ροής των ρευμάτων (Du et al., 2007).

Και οι τέσσερις υπομονάδες των AMPA υποδοχέων έχουν αρκετές ταυτοποιημένες θέσεις φωσφορυλίωσης στο ενδοκυττάριο κάρβοξυ (C) τελικό τους άκρο και κάποιες από αυτές τις θέσεις σχετίζονται με την διακίνηση των υποδοχέων

³² Μέθοδος γενετικής μηχανικής (engineering) που εμπλέκει την εισαγωγή μιας κωδικεύουσας cDNA αλληλουχίας σε συγκεκριμένη θέση του χρωμοσώματος

και με μηχανισμούς πλαστικότητας (Du et al., 2007· Lee, 2006) όπως θα δούμε αναλυτικά στη συνέχεια. Επιπλέον, η διακίνηση των AMPA υποδοχέων φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα και μπορεί να κατέχει μείζονα ρόλο στη διατήρηση κρίσιμων νευρωνικών κυκλωμάτων σχετιζόμενων με τη διάθεση (Du et al., 2004).

3.1.2.1. Διακίνηση (trafficking) AMPA υποδοχέων. Η διακίνηση των AMPA υποδοχέων κατέχει σημαντικό ρόλο στην συναπτική πλαστικότητα και πιθανότατα συντελεί στη διατήρηση μειζόνων νευρωνικών κυκλωμάτων εμπλεκόμενων στη ρύθμιση του συναισθήματος (Du et al., 2010· 2007· 2004). Η σταθεροποίηση των νέο-εισαχθέντων GluR1, πιστεύεται ότι εξαρτάται από την προσκόλλησή τους σε πρωτεΐνες μετασυναπτικής πυκνότητας (post-synaptic density-PSD) (Lee, 2006).

Η φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵, μια θέση φωσφορυλίωσης εκλεκτική για την PKA αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ένθεση των AMPA υποδοχέων στη μεμβράνη (Du et al., 2004). Η επαγόμενη από τη φωσφορυλίωση στην PKA θέση ένθεση των AMPA υποδοχέων στη μεμβράνη αυξάνει την εκπόλωση των μεμβρανών (Du et al., 2007) και έτσι η ένθεση των AMPA υποδοχέων στην μετασυναπτική μεμβράνη αποτελεί έναν από τους μείζονες μηχανισμούς γλουταμινεργικής συναπτικής πλαστικότητας (Nakano et al., 2010). Αποφωσφορυλίωση της GluR1 στη θέση αυτή από πρωτεϊνικές φωσφατάσες όπως η καλσινευρίνη και η PP1 οδηγεί στην ανακύκλωση των GluR1 στα ενδοσώματα κατά την LTD (Long-Term Depression, μακρόχρονη καταστολή) ενώ η επαναφωσφορυλίωσή της οδηγεί σε επαναφορά της στην μεμβράνη (Du et al., 2007).

Τόσο η χρόνια χορήγηση λιθίου όσο και η χρόνια χορήγηση βαλπροϊκού οξέος μειώνουν τη συναπτική έκφραση των AMPA υποδοχέων, μειώνοντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας σε μια θέση φωσφορυλίωσης εκλεκτική για την PKA, τη Ser⁸⁴⁵, στην περιοχή του ιπποκάμπου (Du et al., 2007· 2004· 2003). Έτσι φαίνεται ότι δομικά διαφορετικά σταθεροποιητικά της διάθεσης ρυθμίζουν την συναπτική έκφραση των AMPA υποδοχέων (Du et al., 2003). Αντίθετα, αντικαταθλιπτικά όπως η ιμιπραμίνη (Du et al., 2004) και η φλουοξετίνη αυξάνουν τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ και κατ' επέκταση τη συναπτική έκφρασή της (Svenningsson et al., 2002). Εκτός από τα αντικαταθλιπτικά, και αντιεπιληπτικά όπως η ριλουζόλη (riluzole) και η λαμοτριγίνη που φαίνεται να είναι αποτελεσματικά κατά την καταθλιπτική φάση της ΔΔ αυξάνουν τη συναπτική

έκφραση των GluR1 και GluR2 υπομονάδων. Σε γενικές γραμμές, φαίνεται ότι φάρμακα με αντιμανιακό προφίλ μειώνουν τη συναπτική έκφραση των AMPA υποδοχέων μέσω μείωσης της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας. Αντίθετα, φάρμακα που επιδεικνύουν αντικαταθλιπτικό προφίλ αυξάνουν τη φωσφορυλίωση της GluR1 και τη συναπτική έκφραση των AMPA υποδοχέων (Du et al., 2007). Ενδοεγκεφαλική έγχυση εκλεκτικών αναστολέων των AMPA υποδοχέων στην περιοχή του ιπποκάμπου, μειώνει συμπεριφορές που προσομοιάζουν στη μανία στο πρότυπο της επαγόμενης από αμφεταμίνη υπερκινητικότητας (Du et al., 2008).

Επιπρόσθετα στη Ser⁸⁴⁵, για την ένθεση της GluR1 υπομονάδας στη μεμβράνη, φαίνεται ότι σημαντικό ρόλο παίζει και η φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ από τις CamKII και PKC (Hayashi et al., 2000). Πιο συγκεκριμένα, η εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα κίνηση των GluR1/GluR2 υποδοχέων στη σύναψη αποτελείται από δύο στάδια. Πρώτον, για την είσοδο τους στη μεμβράνη απαιτείται φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στην PKA θέση Ser⁸⁴⁵. Στο δεύτερο στάδιο, η κίνηση των GluR1/GluR2 υποδοχέων στη σύναψη ρυθμίζεται από την ενεργοποίηση της CamKII αλλά και της MAPK (Du et al., 2007). Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ από την CaMKII είναι απαραίτητη για τη μεταφορά των AMPA υποδοχέων στη σύναψη στις «σιωπηλές» συνάψεις όπου εκλείπουν οι AMPA υποδοχείς (Du et al., 2004; Liao et al., 2001a).

Ομομερή AMPA υποδοχέων αποτελούμενα από GluR1 υπομονάδες προσαρτώνται στην περιοχή της σύναψης έπειτα από την επαγωγή LTP (Shi et al., 1999), ενώ ομομερή AMPA υποδοχέων αποτελούμενα από GluR2 ή GluR3 υπομονάδες εισάγονται αυθόρμητα (Lee, 2006). Οι «κανόνες» στους οποίους υπόκειται τη διακίνηση των υπομονάδων καθορίζεται από το ενδοκυττάριο καρβοξυτελικό άκρο της εκάστοτε υπομονάδας (Shi et al., 1999).

3.1.3. Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας. Ο μεγάλος βαθμός πλαστικότητάς αποτελεί μείζον χαρακτηριστικό των συνάψεων του ΚΝΣ (Zhuo, 2009). Το 1940 ο Donald Hebb πρότεινε ότι οι συνειρμικές μνήμες σχηματίζονται στον εγκέφαλο μέσω διαδικασιών συναπτικών τροποποιήσεων που ενδυναμώνουν τις συνδέσεις (Citri & Malenka, 2008). Αλλαγές στην ισχύ της σύναψης κατά τη διάρκεια ποικίλων τύπων πλαστικότητας εμπλέκουν τη διακίνηση των AMPA και NMDA υποδοχέων (Gao & Wolf, 2007; Malinow & Malenka, 2002). Επιπλέον, αλλαγές στη σύσταση από υπομονάδες των ιοντοτροπικών γλουταμινεργικών υποδοχέων μπορούν επίσης να

συμβάλλουν σε συναπτική πλαστικότητα (Cull-Candy & Leszkiewicz, 2004). Οι Lynch και Baudry (1984) ήταν οι πρώτοι που διατύπωσαν την υπόθεση ότι τροποποιήσεις στους AMPA υποδοχείς εμπλέκονται στη συναπτική πλαστικότητα. Πρότειναν ότι η αύξηση στο Ca^{2+} από τον NMDA υποδοχέα οδηγεί σε περισσότερο λειτουργικούς AMPA υποδοχείς στις συνάψεις. Η αύξηση αυτή στη λειτουργικότητά τους οφείλεται τόσο σε προς τα πάνω ρύθμιση των συναπτικών υποδοχέων όσο και σε τροποποίηση (π.χ. μέσω φωσφορυλίωσης) των υπαρχόντων υποδοχέων (Miyamoto, 2006).

Σε γενικές γραμμές, η κατανόηση που έχουμε σήμερα αναφορικά με τους μηχανισμούς συναπτικής πλαστικότητας είναι αποτέλεσμα μοριακής και κυτταρικής ανάλυσης της LTP και της LTD. Οι LTP και LTD επάγονται εύκολα σε πολλές εγκεφαλικές περιοχές με διαφορετικούς μηχανισμούς επαγωγής και έκφρασης. Υπάρχουν τουλάχιστον δύο διαφορετικοί μηχανισμοί επαγωγής LTP και LTD, ένας εκ των οποίων είναι εξαρτώμενος από τους NMDA υποδοχείς και ένας ανεξάρτητος από αυτούς. Οι δύο αυτοί μηχανισμοί φαίνεται ότι είναι αλληλεπικαλυπτόμενοι αλλά με διαφορετικούς μηχανισμούς μηνυματοδότησης (Lee, 2006).

Οι δύο αυτοί τύποι συναπτικής πλαστικότητας έχουν αντίθετα αποτελέσματα στην ισχύ του μεταφερόμενου σήματος και σε γενικές γραμμές μπορεί να ειπωθεί ότι η LTP σχετίζεται με αύξηση της συναπτικής λειτουργίας ενώ αντίθετα, η LTD μειώνει ή εξασθενεί την αποτελεσματικότητα της συναπτικής διαβίβασης. Ωστόσο θα πρέπει να σημειωθεί ότι δύο τύποι πλαστικότητας δεν περιορίζονται μόνο στις διεγερτικές γλουταμινεργικές συνάψεις, αλλά ανάλογοι τύποι πλαστικότητας έχουν περιγραφεί και σε ανασταλτικές συνάψεις όπου όμως οι υποκείμενοι μηχανισμοί είναι διαφορετικοί (Zhuo, 2009). Γενικά οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί των LTP και LTD ποικίλουν ανάλογα με την σύναψη και το κύκλωμα στο οποίο εκδηλώνονται (Malenka & Bear, 2004).

LTP και LTD εξαρτώνται από τη δραστικότητα πρωτεϊνών κινασών και πρωτεϊνών φωσφατασών αντίστοιχα. Με τον τρόπο αυτό, αλλαγές στη φωσφορυλίωση συναπτικών πρωτεϊνών μπορεί να διαμεσολαβούν για την έκφραση των LTP και LTD, ενώ και οι AMPA και NMDA υποδοχείς συμπεριλαμβάνονται στις μετασυναπτικές πρωτεΐνες των οποίων αλλάζει η κατάσταση φωσφορυλίωσης κατά τις LTP και LTD.

3.1.3.1. Μακρόχρονη ενδυνάμωση (LTP). Η LTP είναι το πιο αποτελεσματικό κυτταρικό μοντέλο για τη διερεύνηση συναπτικών αλλαγών που υπόκεινται της διαδικασίας της μάθησης καθώς και διαταραχών του εγκεφάλου (Zhuo, 2009· Blundon & Zakharenko, 2008· Lu et al., 1999). Οι περισσότερες από τις μοριακές πληροφορίες αναφορικά με την LTP και LTD προέρχονται από μελέτες στην περιοχή CA1 (Cornu Ammonis 1) του ιπποκάμπου.

Η LTP είναι ένα φαινόμενο χαρακτηριζόμενο από πολλαπλές φάσεις, ενώ τα σύγχρονα μοντέλα διαχωρίζουν την LTP σε τρεις διακριτές φάσεις: την αρχική LTP (Initial-LTP, I-LTP), την πρόιμη LTP (Early-LTP, E-LTP) και την καθυστερημένη LTP (Late-LTP, L-LTP). Η αρχική LTP (I-LTP) αναφέρεται επίσης και ως βραχύχρονη διευκόλυνση και διαρκεί περίπου 30-60 λεπτά (Kumar, 2011· Roberson et al., 1996). Η πρόιμη LTP (E-LTP) επάγεται από λίγα τετανικά ερεθίσματα και διαρκεί 2-3 ώρες ενώ η καθυστερημένη LTP (L-LTP) επάγεται έπειτα από πολλαπλά τετανικά ερεθίσματα, διαρκεί 5-6 ώρες και απαιτεί την έκφραση γονιδίων και τη σύνθεση νέων πρωτεϊνών (Kumar, 2011). Ο μηχανισμός επαγωγής LTP εμπλέκει έναν καταρράκτη διαβίβασης σήματος που περιλαμβάνει προσυναπτικές και μετασυναπτικές διεργασίες (Kumar, 2011· Kandel et al., 2003).

Η βραχύχρονη διευκόλυνση ή αρχική LTP (I-LTP) απαιτεί την ενεργοποίηση της PKA η οποία φωσφορυλιώνει ποικίλες πρωτεΐνες-στόχους συμπεριλαμβανομένων και των διαύλων K^+ , γεγονός που οδηγεί στο κλείσιμό τους και στη συνακόλουθη παράταση του δυναμικού ενέργειας. Μια δεύτερη οδός για την έκφραση της βραχύχρονης διευκόλυνσης εμπλέκει τη φωσφορυλίωση πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην κινητοποίηση των κυστιδίων που περιέχουν νευροδιαβιβαστές με αποτέλεσμα την αύξηση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών στη συναπτική σχισμή. Επιπροσθέτως, η αύξηση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών μέσω της PKA επιτυγχάνεται έπειτα από φωσφορυλίωση των L τύπων διαύλων Ca^{2+} , οι οποίοι ρυθμίζουν έμμεσα την απελευθέρωση μέσω ενός Ca^{2+} -εξαρτώμενου μηχανισμού κινητοποίησης των κυστιδίων. Οι μηχανισμοί βραχύχρονης διευκόλυνσης είναι ουσιαστικά προσυναπτικοί και σχετίζονται με τον σχηματισμό βραχύχρονων μνημών (Kandel et al., 2003).

Η τετανική διέγερση των προσυναπτικών νευρικών ινών οδηγεί σε αύξηση των ιόντων Ca^{2+} και απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, κυρίως γλουταμινικού οξέος στην συναπτική σχισμή (Kumar, 2011· Kandel et al., 2003). Το γλουταμινικό αρχικά δρα σε ιοντοτροπικούς AMPA υποδοχείς διεγείροντας την εισροή θετικά

φορτισμένων ιόντων νατρίου, προκαλώντας με τον τρόπο αυτό εκπόλωση του κυττάρου. Το μέγεθος της εκπόλωσης καθορίζει το ποσό ιόντων Ca^{2+} που θα εισέλθουν στο μετασυναπτικό κύτταρο και εφόσον ο βαθμός εκπόλωσης είναι επαρκής για τη μετακίνηση του Mg^{2+} που αποκλείει τον NMDA υποδοχέα τότε ο υποδοχέας-διάυλος (ιοντοτροπικός) επιτρέπει την περαιτέρω είσοδο Ca^{2+} στο κύτταρο. Το σήμα που προέρχεται από το Ca^{2+} είναι απαραίτητο για την επαγωγή της LTP και προσδιορίζει το βαθμό και τη διάρκεια της πρώιμης φάσης της LTP (E-LTP), η οποία επάγεται όταν η συγκέντρωση Ca^{2+} ξεπεράσει έναν κρίσιμο ουδό (Kumar, 2011· Malenka & Bear, 2004). Η ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων και η ταχεία είσοδος ιόντων Ca^{2+} οδηγεί στην ενεργοποίηση πολλών ενζύμων συμπεριλαμβανομένης της CaMKII (Kumar, 2011· Miyamoto, 2006· Malenka & Bear, 2004· Kandel, 2003) και IV, της ενεργοποιούμενης από το μιτογόνο πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK) (Miyamoto, 2006· Malenka & Bear, 2004) καθώς και της PKC (Kumar, 2011· Malenka & Bear, 2004· Kandel, 2003). Η επαγωγή της δραστηριότητας των ενζύμων αυτών διαμεσολαβεί για την πρώιμη φάση της LTP (Kumar, 2011).

Κεντρικό ρόλο στην LTP έχει η CaMKII, η οποία στις διεγερτικές γλουταμινεργικές συνάψεις ενεργοποιείται από την εισροή Ca^{2+} μέσω των NMDA υποδοχέων και διευκολύνει τα ρεύματα μέσω AMPA υποδοχέων αυξάνοντας τον αριθμό των υποδοχέων στη σύναψη αλλά και αυξάνοντας την αγωγιμότητα των διαύλων. Η επαγωγή της LTP απαιτεί την αυτοφωσφορυλίωση της CaMKII στην Thr²⁸⁶ (O'Leary et al., 2011), η οποία διατηρεί το ένζυμο ενεργό ανεξάρτητα από την παρατεταμένη παρουσία Ca^{2+} (Kumar, 2011· Lisman, 1994). Οι AMPA υποδοχείς ενεργοποιούνται μέσω φωσφορυλίωσης από την CaMKII (Lee, 2006· Miyamoto, 2006) στη Ser⁸³¹ της GluR1 υπομονάδας, παρ' όλο που και η φωσφορυλίωση της GluR1 στην PKA θέση φωσφορυλίωσης, Ser⁸⁴⁵ μπορεί να αυξηθεί αν η LTP επάγεται έπειτα από την επαγωγή LTD³³ (Lee, 2006). Ομομερή AMPA υποδοχέων

³³ Ωστόσο, μετάλλαξη της Ser⁸³¹ σε αλανίνη δεν επηρεάζει την εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα εισαγωγή της GluR1 (Hayashi et al., 2000). Παρ' όλα αυτά, η Ser⁸³¹ φαίνεται ότι σχετίζεται με την αύξηση της διαπερατότητας των AMPA υποδοχέων έπειτα από LTP (Derkach et al., 1999). Αντίθετα, μετάλλαξη της Ser⁸⁴⁵ σε αλανίνη προλαμβάνει την εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα εισαγωγή της GluR1 υπομονάδας στη σύναψη (Esteban et al., 2003), υποδηλώνοντας σημαντική εμπλοκή της

αποτελούμενα από GluR1 υπομονάδες φαίνεται ότι προσαρτώνται στην περιοχή της σύναψης έπειτα από την επαγωγή LTP (Shi et al., 1999) υποδεικνύοντας ότι η GluR1 υπομονάδα κατέχει σημαντικό ρόλο στην LTP. Μάλιστα, κάποιες μορφές LTP φαίνεται ότι απουσιάζουν, σε ποντίκια που τους έχει εξαλειφθεί η GluR1 υπομονάδα (Andrasfalvy et al., 2003· Mack et al., 2001)

Ακόμα, η επαγόμενη από LTP διέγερση του NMDA υποδοχέα οδηγεί στην άμεση πρόσδεση της CaMKII στην NR2B υπομονάδα του NMDA υποδοχέα. Η αλληλεπίδραση της CaMKII με την NR2B υπομονάδα είναι σημαντική για τη ρύθμιση της συναπτικής ισχύος καθώς διατηρεί την CaMKII σε μια ενεργό διαμόρφωση με αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας ακόμα και όταν έχει υποχωρήσει το αρχικό ερέθισμα της εισροής Ca^{2+} και όταν η CaMKII δεν είναι πλέον φωσφορυλιωμένη. Η μείζων θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την CaMKII είναι η Ser¹³⁰³ (O'Leary et al., 2011).

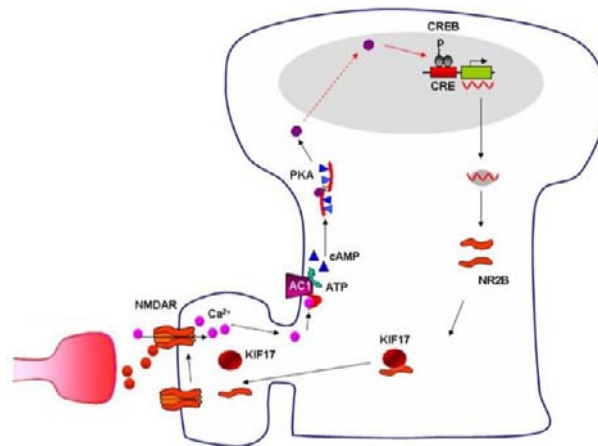
Σημαντικό επίσης ένζυμο στην LTP είναι η PKC (Kumar, 2011· Kandel et al., 2003). Η PKC ενεργοποιείται παρουσία ποικίλων δευτέρων αγγελιαφόρων συμπεριλαμβανομένου Ca^{2+} , της διακυλογλυκερόλης, του αραχιδονικού οξέος και άλλων φωσφολιπιδίων (Kumar, 2011· Nishizuka, 1992). Η ενεργοποίηση της PKC από το Ca^{2+} είναι παροδική αλλά η PKC έχει τη δυνατότητα αυτοφωσφορυλίωσης χωρίς την συνεχή παρουσία Ca^{2+} . Η ικανότητα των PKC και CaMKII για αυτοφωσφορυλίωση παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της πρώιμης φάσης της LTP (E-LTP) (Kumar, 2011· Sacktor, 2008).

Η καθυστερημένη LTP (L-LTP) αποτελεί τη φυσική επέκταση της πρώιμης φάσης της LTP (E-LTP) και αντικατοπτρίζει την τελική φάση της LTP. Το σήμα κατατεθέν της L-LTP είναι μεταγραφή γονιδίων και το γεγονός ότι εξαρτάται από την πρωτεϊνική σύνθεση (Kumar, 2011· Kelleher et al., 2004). Η παροδική αύξηση των ιόντων Ca^{2+} λόγω εισροής μέσω NMDA υποδοχέων, διεγείρει τα ευαίσθητα στα ιόντα Ca^{2+} ένζυμα της αδενυλικής κυκλάσης με συνακόλουθη αύξηση της παραγωγής κυκλικού AMP και ενεργοποίησης της PKA. Η φωσφορυλιωμένη PKA μπορεί να

μηνυματοδότησης που διαμεσολαβείται από την PKA στην εισαγωγή της GluR1 υπομονάδας στην επαγόμενη από LTP σύναψη (Lee, 2006).

ενεργοποιήσει τις MAPK κινάσες και πιο συγκεκριμένα την ERK. Η ενεργοποίηση της ERK επάγει τη φωσφορυλίωση μεταγραφικών παραγόντων όπως ο CREB (Kumar, 2011). Υπάρχουν στοιχεία που στηρίζουν την υπόθεση σημαντικής εμπλοκής στην L-LTP των μεταγωγέων του ρυθμιζόμενου CREB 1 (Transducers of Regulated CREB 1, TORC1) (Kumar, 2011· Kovács et al., 2007). Ο φωσφορυλιωμένος CREB επάγει αλλαγές στην μεταγραφή γονιδίων και διεγείρει τη σύνθεση νέων πρωτεϊνών (Βλ. ΣΧΗΜΑ E22, Kumar, 2011· Impey et al., 1996).

Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι μέχρι και σήμερα, στα μείζονα αμφιλεγόμενα ζητήματα αναφορικά με τους υποκείμενους μηχανισμούς της LTP είναι το κατά πόσο η LTP αποτελεί το αποτέλεσμα προσυναπτικής ή μετασυναπτικής λειτουργίας (Kumar, 2011· Lauri et al., 2007· Debanne et al., 1997).

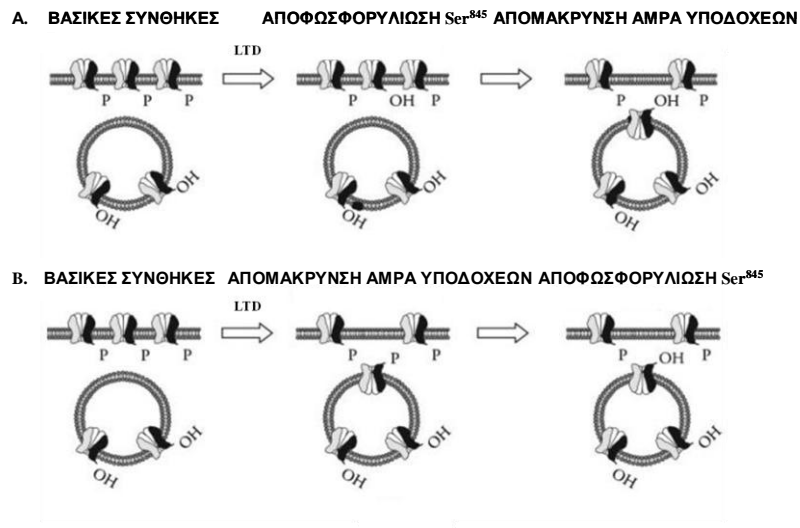


ΣΧΗΜΑ E22. Μηχανισμός επαγωγής L-LTP. Η ενεργοποίηση του NMDA υποδοχέα διεγείρει την εισροή ιόντων Ca^{2+} . Μετασυναπτική αύξηση των ιόντων Ca^{2+} οδηγεί σε ενεργοποίηση του ενζύμου αδενυλική κυκλάση (AC) και την παραγωγή κυκλικού AMP με επακόλουθη ενεργοποίηση της PKA. Η PKA στη συνέχεια μετατοπίζεται στον πυρήνα και φωσφορυλιώνει τον μεταγραφικό παράγοντα CREB. Η NR2B υπομονάδα περιέχει μια περιοχή (domain) δέσμευσης του CREB το οποίο μπορεί να συζευγνύει τις αυξήσεις του ενδοκυττάριου ασβεστίου με αύξηση στην έκφραση της NR2B υπομονάδας. Στη συνέχεια η μετασυναπτική σύνθεση της NR2B υπομονάδας αυξάνεται και σε συνδυασμό με την ενδογενή κινητική πρωτεΐνη KIF17 (Kinesin Family member 17), οι νέες αυτές NR2B υπομονάδες προστίθενται στους μετασυναπτικούς NMDA υποδοχείς. Αυτός ο έλεγχος θετικής επανατροφοδότησης μπορεί να ενισχύει περαιτέρω την νευρωνική διεγερσιμότητα όπως μπορεί να παρατηρηθεί στην περίπτωση του χρόνιου πόνου (Από Zhuo, 2009).

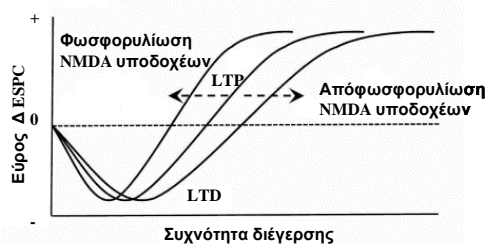
3.1.3.2. Μακρόχρονη καταστολή (LTD). Η LTD είναι μια μακρόχρονη μείωση της συναπτικής δύναμης και έχει εμπλακεί στην ανάπτυξη του ΚΝΣ, τη μάθηση-μνήμη, τον εθισμό καθώς και την νοητική υστέρηση. Η εξαρτώμενη από τους NMDA υποδοχείς LTD εμπλέκει τη μετασυναπτική αύξηση των επιπέδων Ca^{2+} , την ενεργοποίηση ενός καταρράκτη πρωτεϊνικών φωσφατασών σερίνης/θρεονίνης και την εξαρτώμενη από κλαθρίνη ταχεία ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων (Han et al., 2009). Γενικά η κατεύθυνση της συναπτικής πλαστικότητας (εξασθένηση ή ενδυνάμωση, Βλ. ΣΧΗΜΑ E24) εξαρτάται από το μέγεθος και την πορεία του χρόνου της εισόδου ιόντων Ca^{2+} . Έτσι, μια μικρή διέγερση μεγάλης χρονικής διάρκειας (5-30λεπτά) επιτρέπει την είσοδο λιγότερων ιόντων³⁴ Ca^{2+} μέσω των NMDA υποδοχέων οδηγώντας στην επαγωγή της LTD (Yashiro & Philpot, 2008).

Η ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων απαιτεί την αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ (Βλ. ΣΧΗΜΑ E23, Lee et al., 2000· Lee et al., 1998· Kameyama et al., 1998), αν και παρατηρείται και αποφωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ όταν η LTD ακολουθείται από την επαγωγή LTP (Lee et al., 2000). Η αποφωσφορυλίωση της Ser⁸⁴⁵ σηματοδοτεί και την ενδοκυττάρωση του υποδοχέα και διαμεσολαβείται από τη δραστηριότητα ενός «καταρράκτη» πρωτεϊνικών φωσφατασών που περιλαμβάνουν την πρωτεϊνική φωσφατάση-1 (PP1) και την καλσινευρίνη (PP2B). Φαίνεται να είναι ένας από τους μηχανισμούς μετακίνησης των συναπτικών AMPA υποδοχέων έπειτα από την επαγωγή LTD, σε συνδυασμό με GluR2-εξαρτώμενους μηχανισμούς (Lee, 2006). Τόσο η PP1 όσο και η PP2B (Protein Phosphatase 2B, πρωτεϊνική φωσφατάση 2B) εντοπίζονται σε μετασυναπτικές τελικές απολήξεις γεγονός που τα φέρνει σε γεινίαση με πιθανά συναπτικά υποστρώματα συμπεριλαμβανομένων των AMPA υποδοχέων (Lee, 2006). Η παρατεταμένη αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵, όπως παρατηρείται έπειτα από την επαγωγή της LTD, θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποικοδόμηση και προς τα κάτω ρύθμιση των συναπτικών AMPA υποδοχέων (Lee, 2006).

³⁴ Σε σχέση με αυτά που απαιτούνται για την επαγωγή της LTP όπου εκεί το ηλεκτρικό ερέθισμα είναι μεγαλύτερο αλλά μικρότερης διάρκειας (διάρκειας δευτερολέπτων)



ΣΧΗΜΑ E23. Δύο εναλλακτικοί μηχανισμοί για LTD. Α. Η LTD οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας της Ser⁸⁴⁵. Η αποφωσφορυλίωση αυτή σηματοδοτεί την ενεργοποίηση του μηχανισμού ενδοκυττάρωσης του υποδοχέα, που περιλαμβάνει και GluR2-εξαρτώμενους μηχανισμούς. Η αποφωσφορυλίωση της Ser⁸⁴⁵ μπορεί να επιτρέψει την πλευρική διακίνηση των AMPA υποδοχέων από τη συναπτική απόληξη σε ενδοκυττάρια «θερμά σημεία» (“hot spots”). Όταν ο υποδοχέας βρεθεί στο σημείο αυτό, ενεργοποιείται ο GluR2-εξαρτώμενος μηχανισμός ο οποίος συμβάλλει στη διαμεσολαβούμενη από το «επικάλυμμα» κλαθρίνης ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων. Β. Εναλλακτικά, η επαγωγή LTD μπορεί να οδηγήσει πρώτα στην ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων μέσω ενός GluR2-εξαρτώμενου μηχανισμού. Στην περίπτωση αυτή, φωσφορυλίωση στη Ser⁸⁸⁰ της GluR2 υπομονάδας μπορεί να επιτρέψει την κινητοποίηση των συναπτικών AMPA υποδοχέων προς ενδοκυττάρια σημεία και την εσωτερίκευση μέσω εξαρτώμενου από «επικάλυμμα» κλαθρίνης μηχανισμού. Οι ενδοκυτταρωμένοι υποδοχείς θα πρέπει να αποφωσφορυλιωθούν στη Ser⁸⁴⁵ της GluR1 υπομονάδας για να παραμείνουν στις ενδοκυττάρια αποθήκες. Οι AMPA υποδοχείς που δεν υπόκεινται αποφωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας είναι πιθανό να ανακυκλωθούν πίσω στη σύναψη, ενώ οι αποφωσφορυλιωμένοι υποδοχείς μεταφέρονται στα λυσοσώματα για αποδόμηση (Μεταφρασμένο από Lee, 2006).



ΣΧΗΜΑ E24. Η κατεύθυνση της συναπτικής πλαστικότητας (ενδυνάμωση ή καταστολή) εξαρτάται από την κατάσταση φωσφορυλίωσης των NMDA υποδοχέων (Σχήμα μεταφρασμένο από Salter et al., 2009).

4. Φαρμακοθεραπεία. Η θεραπεία της ΔΔ είναι δύσκολη και χαρακτηρίζεται από πολυπλοκότητα καθώς εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως η κατάσταση με την οποία εμφανίζεται ο ασθενής στον κλινικό (μανιακό ή καταθλιπτικό επεισόδιο), η φάση της νόσου (οξεία συνδρομή ή φάση συντήρησης), τα ιδιαίτερα συμπτώματα του ασθενούς (ψυχωσικά, ευφορικά, μεικτά), το προηγούμενο ιστορικό απόκρισης σε θεραπεία, η συμμόρφωση στη θεραπεία και η συννοσηρότητα με άλλες διαταραχές. Πρέπει να σημειώσουμε επίσης ότι κάποιες φαρμακοθεραπείες μπορεί να είναι αποτελεσματικότερες σε κάποιες πτυχές της διαταραχής και όχι σε κάποιες άλλες και γι' αυτό η νόσος σε ορισμένους ασθενείς μπορεί να αποδειχτεί εξαιρετικά δύσκολη στην αντιμετώπιση (Fountoulakis et al., 2007).

Έτσι, μέχρι σήμερα δεν υπάρχει ιδανική θεραπεία για τη ΔΔ, ή τουλάχιστον για όλους τους διπολικούς ασθενείς, καθώς μόνο οι μισοί διπολικοί ασθενείς επιτυγχάνουν ύφεση για μια περίοδο δύο ετών και οι μισοί από αυτούς υποτροπιάζουν εντός δύο ετών (Perlis et al., 2006). Επιπλέον, ακόμα και στους ασθενείς που ανταποκρίνονται στα υπάρχοντα σταθεροποιητικά της διάθεσης συχνά απαιτείται σημαντικός χρόνος και χρόνια χορήγηση έως ότου παρουσιάσουν σημαντική κλινική ύφεση της συμπτωματολογίας (Du et al., 2010· Tomasiewicz et al., 2006).

Στους προβληματισμούς αναφορικά με τις θεραπείες δεν περιλαμβάνεται μόνο η αποτελεσματικότητα των υπάρχουσών φαρμακοθεραπειών αλλά και η ανοχή του ασθενούς καθώς λόγω των πολλαπλών ανεπιθύμητων ενεργειών και της αυξημένης τοξικότητας που έχουν ορισμένες από αυτές (π.χ. λίθιο) μπορεί να επηρεαστεί και η συμμόρφωση στη θεραπεία.

Σε γενικές γραμμές, η θεραπευτική αντιμετώπιση της ΔΔ μπορεί να χωριστεί σε τρεις φάσεις:

1. Θεραπεία του οξέος επεισοδίου έως ότου επέλθει ύφεση των συμπτωμάτων
2. Συνέχιση της θεραπείας για την πρόληψη της υποτροπής
3. Θεραπεία συντήρησης για την πρόληψη της επανεμφάνισης της συμπτωματολογίας. Η φαρμακοθεραπεία που χρησιμοποιείται κατά την οξεία φάση συνήθως χρησιμοποιείται και στη συνέχεια (φάση συντήρησης) (Tsai et al., 2011).

Σύμφωνα με το DSM-IV-TR η θεραπεία του οξέος μανιακού επεισοδίου γίνεται με τη χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης (λίθιο, αντιεπιληπτικά) ή αντιψυχωσικών ή πιο συχνά με συγχορήγηση σταθεροποιητικών και αντιψυχωσικών (American Psychiatric Association, 2000). Έτσι, το λίθιο, τα αντιεπιληπτικά και τα αντιψυχωσικά παραμένουν εδώ και χρόνια θεραπείες πρώτης επιλογής στην αντιμετώπιση της ΔΔ (Fountoulakis et al., 2007· Kasper, 2003· Moller & Nasrallah, 2003· Baldessarini, 2002· Kahn et al., 2000).

Πρέπει να σημειώσουμε ότι αν και τα φάρμακα αυτά διαφέρουν πολύ ως προς την φαρμακοχημεία και τους πρωταρχικούς τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης, παρουσιάζουν αρκετούς κοινούς έμμεσους ή άμεσους μοριακούς στόχους. Παρ' όλα αυτά, ο κοινός μηχανισμός δράσης που μπορεί να εξηγήσει την αποτελεσματικότητά τους στην αντιμετώπιση της συμπτωματολογίας της ΔΔ δεν έχει ακόμα ταυτοποιηθεί. Έτσι, οι θεραπευτικοί μοριακοί στόχοι δράσης αποτελούν μέχρι και σήμερα αντικείμενο συζήτησης και διερεύνησης (Derry & Moore, 2007· Leng et al., 2008). Αξιοσημείωτο είναι μάλιστα το γεγονός ότι όλες οι χρησιμοποιούμενες φαρμακοθεραπείες, με εξαίρεση το λίθιο, δεν έχουν αναπτυχθεί ειδικά για τη ΔΔ αλλά ανήκουν είτε στα αντιεπιληπτικά είτε στα αντιψυχωσικά φάρμακα (DiazGranados & Zarate, 2008· Zarate & Manji, 2009).

Το λίθιο, αποτελεί μέχρι και σήμερα τη θεραπεία πρώτης επιλογής για όλες τις φάσεις της διαταραχής αν και θεωρείται αποτελεσματικότερο στη θεραπεία των μανιακών επεισοδίων (Fountoulakis et al., 2007). Ασθενείς με τυπικά μανιακά συμπτώματα και οικογενειακό ιστορικό μανιοκατάθλιψης και εναλλαγές καταθλιπτικών και μανιακών επεισοδίων με περιόδους ευφορίας ανταποκρίνονται καλά στη θεραπεία με λίθιο. Το λίθιο έχει επίσης συσχετιστεί με μείωση των

αποπειρών αυτοκτονίας. Οι πολλαπλοί μηχανισμοί δράσης του λιθίου παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια. Ασθενείς με μη κλασικά χαρακτηριστικά όπως ταχεία κυκλικότητα (εναλλαγή φάσεων), μεικτές καταστάσεις και ψυχωσικά χαρακτηριστικά, μπορεί να ανταποκριθούν καλύτερα σε άλλες θεραπείες όπως τα άτυπα αντιψυχωσικά και τα αντιεπιληπτικά (Marmol, 2008). Η παρούσα διδακτορική διατριβή εξέτασε τις επιδράσεις του λιθίου στο μοντέλο ευφορικής μανίας που χρησιμοποιήσαμε και για το λόγο αυτό παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί δράσης που έχουν προταθεί για το φάρμακο αυτό.

Στην κατηγορία των αντιεπιληπτικών περιλαμβάνονται φάρμακα όπως το βαλπροϊκό οξύ, η λαμοτριγίνη, η καρβαμαζεπίνη, η γκαμπαπεντίνη, η τοπιραμάτη κ.α. (Vigo & Baldessarini, 2009). Οι σύγχρονες κατευθύνσεις προτείνουν τη χορήγηση βαλπροϊκού ή καρβαμαζεπίνης ως μονοθεραπεία ή σε συγχορήγηση με λίθιο για τη θεραπεία της οξείας μανίας (Cousins & Young, 2007). Ο πρωταρχικός μηχανισμός δράσης των αντιεπιληπτικών εμπλέκει τη ρύθμιση των μειζόνων ανασταλτικών και διεγερτικών νευροδιαβιβαστικών συστημάτων, του GABA (Chang et al., 2001) και του γλουταμινικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα, τα περισσότερα αντιεπιληπτικά αυξάνουν τα επίπεδα του GABA επηρεάζοντας τη σύνθεση, την απελευθέρωση, το μεταβολισμό και/ή την επαναπρόσληψή του. Για παράδειγμα η λαμοτριγίνη δρα μειώνοντας τα επίπεδα του γλουταμινικού οξέος αναστέλλοντας την απελευθέρωσή του (Julien, 2003). Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήσαμε τις δράσεις του βαλπροϊκού οξέος στο μοντέλο ευφορικής μανίας που χρησιμοποιήσαμε. Οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί δράσης του βαλπροϊκού οξέος που έχουν προταθεί παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια.

Τα άτυπα αντιψυχωσικά, σε αντίθεση με τα κλασικά που δρουν κατά βάση ως ανταγωνιστές στους D₂ υποδοχείς, δρουν αναστέλλοντας τόσο τους D₂ υποδοχείς όσο και τους 5-HT_{2A} υποδοχείς της σεροτονίνης. Στα άτυπα αντιψυχωσικά συμπεριλαμβάνονται φάρμακα όπως η κλοζαπίνη (το μόνο άτυπο αντιψυχωσικό που αναστέλλει τους D₄ υποδοχείς), η ρισπεριδόνη, η ολανζαπίνη και η ζιπρασιδόνη (Julien, 2003). Διαφορετικό φαρμακολογικό προφίλ παρουσιάζει το επίσης άτυπο αντιψυχωσικό αριπιπραζόλη το οποίο όπως θα δούμε αναλυτικά στη συνέχεια δρα ως μερικός αγωνιστής των D₂/D₃ και 5-HT_{1A} υποδοχέων και ως ανταγωνιστής των 5-HT_{2A} υποδοχέων (Muzina et al., 2008· Fleischhacker, 2005· Hirose & Kikuchi, 2005).

Η πρόιμη φαρμακολογική και ψυχοκοινωνική θεραπεία είναι μείζονος σημασίας για την πρόγνωση και τη μείωση της σοβαρότητας των συμπτωμάτων καθώς και των υποτροπών της ασθένειας. Έχει μάλιστα προταθεί ότι οι ωφέλειες αυτές προκύπτουν από τις νευροτροφικές επιδράσεις των φαρμακευτικών αγωγών που χρησιμοποιούνται στη ΔΔ και για το λόγο αυτό θα πρέπει να αξιολογούνται άμεσα σε ασθενείς πρώτου επεισοδίου (Salvadore et al., 2008).

Η σύγχρονη έρευνα στοχεύει στην ανάπτυξη πιο εκλεκτικών φαρμακευτικών αγωγών για τους ποικίλους προτεινόμενους θεραπευτικούς στόχους που αναπτύξαμε αναλυτικά σε προηγούμενη ενότητα³⁵ αλλά και για κάποιους από τους στόχους δράσης του λιθίου και VPA που θα αναπτύξουμε αναλυτικά στη συνέχεια. Η ανάπτυξη νέων εκλεκτικότερων σταθεροποιητικών της διάθεσης βρίσκεται ακόμα σε εμβρυικό στάδιο, κυρίως στο επίπεδο της βασικής έρευνας και πολύ λίγο έχει προχωρήσει σε επίπεδο κλινικών μελετών. Αξίζει να αναφέρουμε ότι τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί κλινικές μελέτες με την ταμοξιφαίνη, ένα φάρμακο που δρα ως αναστολέας της PKC, το οποίο παρουσίασε αντιμανιακές δράσεις σε ζωικά μοντέλα (Moretti et al., 2011· Pereira et al., 2011· Sabioni et al., 2008· Einat et al., 2007). Από τις κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό στη μανιακή φάση της διαταραχής, είτε ως μονοθεραπεία (DiazGranados & Zarate, 2008· Yildiz et al., 2008) είτε ως συμπληρωματική θεραπεία στο λίθιο (Amrollahi et al., 2011). Το φάρμακο αυτό είναι εγκεκριμένο από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA) ως θεραπεία για τον καρκίνο του μαστού. Βέβαια είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι η ταμοξιφαίνη δεν δρα μόνο ως εκλεκτικός αναστολέας της PKC αλλά δρα και ως ανταγωνιστής υποδοχέων οιστρογόνων (Amrollahi et al., 2011). Επιπροσθέτως η βεραπαμίλη, που επίσης αναστέλει την PKC αλλά επιπλέον δρα και ως αναστολέας διαύλων ασβεστίου, έχει βρεθεί ότι έχει αντιμανιακές δράσεις ως συμπληρωματική θεραπεία στο λίθιο αλλά όχι ως μονοθεραπεία (Mallinger et al., 2008). Αν και τα δεδομένα αυτά στηρίζουν την υπόθεση εμπλοκής της PKC στην παθοφυσιολογία της διαταραχής, φαίνεται ότι η απλή αναστολή της PKC πιθανώς δεν είναι επαρκής για την άμβλυνση των μανιακών συμπτωμάτων. Έτσι περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την ταυτοποίηση επαρκών αντιμανιακών στόχων δράσης φαρμάκων και την εύρεση αποτελεσματικότερων,

³⁵ Βλ. Κεφάλαιο Ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος στη ΔΔ

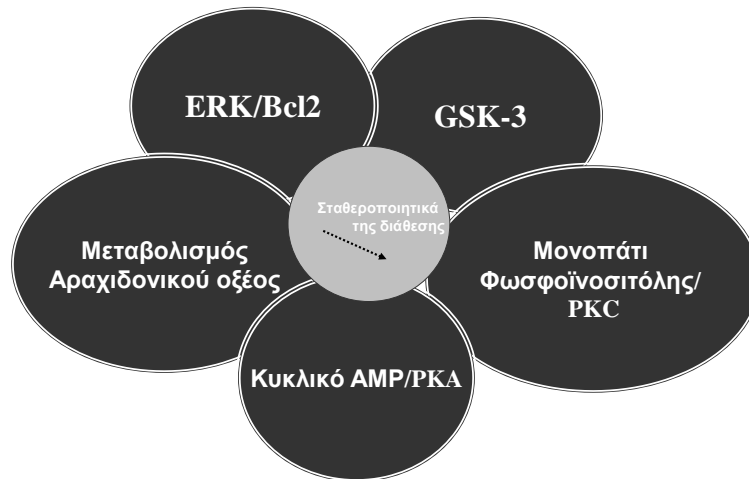
εκλεκτικών φαρμακευτικών αγωγών. Χρήσιμο «εργαλείο» στην εύρεση τέτοιων στόχων είναι η κατανόηση των αντιμανιακών μηχανισμών δράσης των υπαρχουσών φαρμακοθεραπειών. Η παρούσα διδακτορική διατριβή φιλοδοξεί σε ένα βαθμό να συμβάλει στην κατανόηση των θεραπευτικών μηχανισμών δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε5.	
Σταθεροποιητικά της διάθεσης	
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	
	Λίθιο
	Αντιεπιληπτικά
	Άτυπα Αντιψυχωσικά

5. Μηχανισμός δράσης σταθεροποιητικών της διάθεσης

5.1. Μοριακοί μηχανισμοί δράσης σταθεροποιητικών της διάθεσης. Οι θεραπευτικοί μοριακοί στόχοι δράσης αποτελούν μέχρι και σήμερα αντικείμενο συζήτησης και διερεύνησης (Derry & Moore, 2007· Leng et al., 2008). Ο μηχανισμός δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης εμπλέκει ποικίλα ενδοκυττάρια μονοπάτια συμπεριλαμβανομένων αυτών της PKC (Pandey et al., 2008· Du et al., 2004· Manji & Chen, 2002), της PKA, της ERK, της GSK-3β, του ενδοκυττάριου ασβεστίου αλλά και μονοπάτια που εμπλέκονται στη συναπτική πλαστικότητα (Du et al., 2004· Manji & Chen, 2002) και σε μεταγραφικές διεργασίες σχετιζόμενες με το μονοπάτι του AO (Marmol, 2008). Επιπλέον, η χρόνια χορήγηση λιθίου και βαλπροϊκού οξέος έχει βρεθεί ότι διπλασιάζει τα επίπεδα της Bcl-2, ενώ και το γονίδιο *BAG1*³⁶ έχει ταυτοποιηθεί ως ο στόχος δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε25, Newberg et al., 2008). Οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης για το λίθιο, το βαλπροϊκό οξύ και την αριπιπραζόλη παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω.

³⁶ Το BAG1 αλληλεπιδρά με το Hsp70 (70 kDa Heat Shock Proteins), υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών (Glucocorticoid Receptors, GRs), Bcl-2 και Raf, και έτσι ρυθμίζει την ενδοκυττάρια διαβίωση σήματος, πυρηνικούς υποδοχείς ορμονών, μεταγραφή γονιδίων και κυτταρική επιβίωση



ΣΧΗΜΑ Ε25. Συνολική διαγραμματική παρουσίαση κοινών στόχων των σταθεροποιητικών της διάθεσης.

5.2. Λίθιο (Li^+). Το λίθιο ανακαλύφθηκε το 1817 και έλαβε την ονομασία του από την λέξη «λίθος» καθώς βρέθηκε μέσα σε μια πέτρα. Η κλινική ιστορία του λιθίου ξεκινάει στα μέσα του 19^{ου} αιώνα ως θεραπεία για την αρθρίτιδα, ενώ το 1940 χρησιμοποιήθηκε ως υποκατάστατο του χλωριούχου νατρίου (αλατιού) σε υπερτασικούς ασθενείς. Ωστόσο, η χρήση του απαγορεύτηκε λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών του. Το 1949, ο Cade πρότεινε ότι θα μπορούσε να αποτελέσει αποτελεσματική θεραπεία για τη ΔΔ, ενώ το 1974 γίνεται το πρώτο «σκεύασμα» που εγκρίνεται από τον FDA ως θεραπεία συντήρησης για τη ΔΔ (Marmol, 2008).

Πρόκειται για απλό μονοσθενές κατιόν (Li^+), το οποίο παραμένει εδώ και χρόνια η θεραπεία πρώτης επιλογής για τη ΔΔ καθώς είναι αποτελεσματικό για την οξεία μανία, τα καταθλιπτικά επεισόδια αλλά και τη μείωση των υποτροπών (Du et al., 2010· Quiroz et al., 2004). Η θεραπευτική του δράση, όπως και άλλων σταθεροποιητικών της διάθεσης, εμφανίζεται μετά από χρόνια χορήγηση και συχνά για την αντιμετώπιση των μανιακών επεισοδίων κρίνεται απαραίτητη η συγχρόνηση αντιψυχωσικών (Baldessarini, 2002). Παρά την ευρεία χρήση του, το λίθιο δεν μπορεί να θεωρηθεί ως η τέλεια θεραπεία καθώς ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών δεν ανταποκρίνεται στην αγωγή, ένα άλλο ποσοστό ασθενών δεν μπορεί να αντέξει τις ανεπιθύμητες ενέργειές του, ενώ σε άλλους ασθενείς παρατηρούνται και τα δύο (Quiroz et al., 2004).

Η αποτελεσματικότητά του περιορίζεται λόγω της υψηλής τοξικότητας που το χαρακτηρίζει (Ahmad et al., 2011). Η αγωγή με λίθιο έχει σχετιστεί τόσο με οφθαλμικές ανεπιθύμητες ενέργειες, πολυουρία, πολυδιψία, απώλεια μάζας σώματος

και παρεμποδισμένη νεφρική ικανότητα έπειτα από την αποστέρηση νερού (Ahmad et al., 2011). Λόγω της υψηλής τοξικότητάς του και του μικρού θεραπευτικού εύρους που έχει είναι απαραίτητος ο έλεγχος των επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα καθώς και ο τακτικός έλεγχος της νεφρικής λειτουργίας και της λειτουργίας του θυρεοειδούς.

Μια από τις επιδράσεις του λιθίου φαίνεται να είναι και η αύξηση του όγκου της φαιάς ουσίας όπως για παράδειγμα παρατηρείται στην περιοχή της αμυγδαλής (Usher et al., 2010), η οποία έχει προταθεί ότι σχετίζεται με την επαγόμενη από το λίθιο αύξηση των συνάψεων (Kim et al., 2009). Η θεραπευτική επίδραση του λιθίου φαίνεται ότι σχετίζεται με τη ρύθμιση της ισορροπίας μεταξύ των νευροδιαβιβαστικών συστημάτων. Πολλά στοιχεία υποστηρίζουν ότι το λίθιο μειώνει την προσυναπτική ντοπαμινεργική δραστηριότητα ενώ αυξάνει την απελευθέρωση σεροτονίνης (Marmol, 2008). Αν και γνωρίζουμε πολλαπλούς στόχους δράσης του λιθίου και μεγάλο μέρος της έρευνας έχει επικεντρωθεί σ' αυτούς, ο μηχανισμός μέσω του οποίου το λίθιο ασκεί της σταθεροποιητικές της διάθεσης δράσεις του παραμένει άγνωστος (Du et al., 2010· Quiroz et al., 2004).

5.2.1. Ιοντικός μηχανισμός δράσης λιθίου. Όλοι οι ιστοί διατηρούν μια συγκεκριμένη ηλεκτροχημική διαβάθμιση και η «κλίση» (gradient) αυτή είναι απαραίτητη για μεγάλο εύρος λειτουργιών μεταφοράς³⁷, για τη διατήρηση της κυτταρικής διεγερσιμότητας, του ελέγχου των συγκεντρώσεων ενδοκυττάριου νατρίου, το κυτταρικό pH και τα ενδοκυττάρια επίπεδα ασβεστίου. Φαίνεται ότι κάθε ιόν λιθίου αντικαθιστά ένα ιόν νατρίου. Σε διπολικούς ασθενείς, οι ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις νατρίου είναι 2-5 φορές μεγαλύτερες σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (Marmol, 2008).

Πριν τη χρήση του λιθίου στη ΔΔ, κλινικοί είχαν παρατηρήσει ότι αλλαγές στα επίπεδα νατρίου στα σωματικά υγρά σχετίζονται με αλλαγές στην διάθεση σε διπολικούς ασθενείς. Επιπροσθέτως, αν και τα ευρήματα είναι αντικρουόμενα, υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν μειωμένη δραστηριότητα της αντλίας Na/K-ATPάσης σε διπολικούς ασθενείς. Αυτή η μείωση σχετίζεται με αύξηση στην κράτηση ιόντων νατρίου. Η μακροχρόνια χορήγηση λιθίου έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει την συσσώρευση λιθίου και αυξάνει τη δραστηριότητα της αντλίας Na/K-

³⁷ Γλυκόζης, αμινοξέων, ιόντων

ΑΤΡάσης σε μεμβράνες ερυθροκυττάρων με συνακόλουθη μείωση νατρίου και ασβεστίου ενδοκυττάρια σε ερυθροκύτταρα διπολικών ασθενών (Marmol, 2008).

Επιπροσθέτως, έχουν βρεθεί υψηλά ενδοκυττάρια επίπεδα ασβεστίου σε ασθενείς με ΔΔ τα οποία επανέρχονται στο φυσιολογικό έπειτα από θεραπεία με λίθιο (Dubovsky et al., 1992). Οι συνέπειες των αυξημένων ενδοκυττάρια επιπέδων νατρίου και ασβεστίου³⁸ έχει υποστηριχθεί ότι επηρεάζουν την έκφραση των συμπτωμάτων της ΔΔ (Marmol, 2008).

5.2.2. Ένζυμα που αποτελούν άμεσους στόχους δράσης λιθίου. Το λίθιο διαθέτει μία ιοντική ακτίνα (ionic radius) παρόμοια μ' αυτή του μαγνησίου και μέσω αυτού αναστέλλει κάποια ένζυμα για τα οποία αποτελεί προαπαιτούμενο συν-παράγοντα. Παρ' όλο που σε κάποιο βαθμό αναστέλλει μεγάλο αριθμό ενζύμων, μόνο μερικά από αυτά αναστέλλονται σε δόσεις όπου τα επίπεδά του στο πλάσμα είναι εντός των θεραπευτικών (0.6-1.2mM).

Στους άμεσους στόχους δράσης του λιθίου περιλαμβάνονται τουλάχιστον τέσσερις σχετιζόμενες μαγνήσιο-εξαρτώμενες φωσφο-μονο-εστεράσες³⁹, ευαίσθητες στο λίθιο φωσφατάσες. Πρόκειται για την πολυφωσφορική ινοσιτόλη 1-φωσφατάση (inositol polyphosphate 1-phosphatase, IPPase, IPPάση), την μονοφωσφορική ινοσιτόλη φωσφατάση (inositol monophosphate phosphatase, IMPase, IMPάση), τη φρουκτόζη 1,6-διφωσφατάση (fructose 1,6-bisphosphatase, FBPase, FBPάση) και τη διφωσφορική νουκλεοτιδάση (bisphosphate nucleotidase, BPNase, BPNάση) (Jope, 2011· Quiroz et al., 2004).

Στους άμεσους στόχους δράσης του λιθίου συμπεριλαμβάνονται και μεταβολικά ένζυμα όπως η φωσφογλυκομουτάση (phosphoglucosmutase, PGMase, PGMάση) (Jope, 2011· Quiroz et al., 2004) και η GSK-3 (Jope, 2011· Kaladchibachi

³⁸ Αύξηση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών, μείωση του δυναμικού ηρεμίας της μεμβράνης για την αύξηση της κυτταρικής διεγερσιμότητας, παράταση της ανερέθιστης περιόδου και ενεργοποίηση μηνυμάτων δεύτερων αγγελιοφόρων

³⁹ Οι φωσφο-μονο-εστεράσες ή φωσφορικοί μονοεστέρες υδρολάσες (phosphomonoesterases ή phosphoric monoester hydrolases) είναι ένζυμα που καταλύουν την υδρόλυση O-P δεσμών από «προσβολή» του φωσφόρου από κυστεΐνη ή ισότιμα μεταλλικά ιόντα.

et al., 2007· Quiroz et al., 2004). Σημαντικό μέρος της έρευνας έχει εστιάσει στην IMPάση και στην GSK-3 ως πιθανούς θεραπευτικούς στόχους δράσης του λιθίου, κυρίως λόγω των κυρίαρχων ρόλων τους στο ΚΝΣ (Quiroz et al., 2004).

5.2.3. Έμμεσοι στόχοι δράσης λιθίου. Το λίθιο φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση ποικίλων ενδοκυττάρων μονοπατιών συμπεριλαμβανομένων αυτού της αδενυλικής κυκλάσης (AC), της φωσφατυδιλο-ινοσιτόλης, του αραχιδονικού οξέος (AO) και νευροτροφικών ενδοκυττάρων μονοπατιών (Quiroz et al., 2004). Εκτός αυτού, ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι ασκεί μείζονες επιδράσεις και σε πρωτεΐνες G (Lenox et al., 2002· Miki et al., 2001· Lee et al., 1999· Manji et al., 1996), πιθανώς μέσω μετα-μεταφραστικών διαδικασιών που οδηγούν στη σταθεροποίηση ενός ανενεργού ετεροτριμερούς (α, β και γ υπομονάδας) της μεταγωγού πρωτεΐνης (Manji et al., 1996).

5.2.3.1. Ενδοκυττάριο μονοπάτι κυκλικού AMP. Το λίθιο έχει δείχθει ότι ασκεί σημαντικές επιδράσεις στο ενδοκυττάριο μονοπάτι της αδενυλικής κυκλάσης, το οποίο όπως προαναφέραμε διαμεσολαβεί για τις δράσεις μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών (Liang et al., 2008· Marmol, 2008). Πιο συγκεκριμένα, αναστέλλει διάφορες ισομορφές της αδενυλικής κυκλάσης (Mann et al., 2009· Ou et al., 2009· Nestler, 2008· Jensen et al., 2000b· Ebstein et al., 1986) όπως τις ισομορφές V και VII (Mann et al., 2008). Η αναστολή του λιθίου στο ένζυμο φαίνεται ότι είναι άμεση (Mørk & Geisler, 1995· Mørk, 1993) ενώ υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν ότι η δράση αυτή παρατηρείται έπειτα από χρόνια και όχι οξεία χορήγηση (Carli et al., 1994).

Το λίθιο ρυθμίζει και τα επίπεδα του κυκλικού AMP στο ΚΝΣ, μειώνοντάς τα (Böer et al., 2008· Marmol, 2008· Montezinho et al., 2007· Wilting et al., 2007· Wang et al., 1999· Mori et al., 1996) ενώ πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το κυκλικό AMP ρυθμίζεται και από τη δραστικότητα της GSK-3β, η οποία αναστέλλεται από το λίθιο (Rao et al., 2010). Επιπροσθέτως, η χρόνια, αλλά όχι η οξεία, χορήγηση λιθίου έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την επαγόμενη από φορσκολίνη⁴⁰ υποδραστικότητα (Bersudsky et al., 1997).

⁴⁰ Η φορσκολίνη αυξάνει τα επίπεδα κυκλικού AMP

Σε τομές ραβδωτού, έχει βρεθεί ότι η οξεία και υπο-χρόνια χορήγηση λιθίου μειώνει τα επίπεδα κυκλικού AMP που διεγείρονται μέσω ντοπαμίνης και ντοπαμινεργικών υποδοχέων. Ενδιαφέρον ωστόσο παρουσιάζει το γεγονός ότι η χρόνια χορήγησή του οδηγεί στην ανάπτυξη αντοχής στις επιδράσεις του στα επίπεδα του κυκλικού AMP γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη πλαστικότητας στο επίπεδο της καταλυτικής υπομονάδας της αδενυλικής κυκλάσης (Dziedzicka-Wasylewska et al., 1995). Επιπρόσθετα ευρήματα για ύπαρξη πλαστικότητας σε ντοπαμινεργικές οδούς έπειτα από χρόνια χορήγηση λιθίου έχουν βρεθεί στο επίπεδο της αύξησης των επιπέδων του mRNA των D₂ υποδοχέων στο ραχιαίο και κοιλιακό ραβδωτό. Μάλιστα, η επίδραση αυτή φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στο κέλυφος του επικλινούς πυρήνα (Dziedzicka-Wasylewska & Wedzony, 1996).

Πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η βασική δραστηριότητα της PKA είναι μειωμένη στον ιππόκαμπο επίμυων στους οποίους έχει χορηγηθεί χρονίως LiCl ή βαλπροϊκό οξύ. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η χρόνια χορήγηση αυτών των σταθεροποιητικών της διάθεσης μειώνει τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στην εξαρτώμενη από την PKA θέση φωσφορυλίωσης, τη Ser⁸⁴⁵ (Du et al., 2004).

Η ενεργοποίηση της PKA οδηγεί σε αύξηση της φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στη Ser¹³³ γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της μεταγραφικής δραστηριότητας (Liang et al., 2008). Η χρόνια χορήγηση λιθίου, αλλά όχι η οξεία χορήγησή του οδηγεί στη μείωση της φωσφορυλίωσης του CREB καθώς και της μεταγραφής γονιδίων που σχετίζεται με τη δραστηριότητά του στις περιοχές του ιπποκάμπου, του φλοιού, του υποθαλάμου και του ραβδωτού κατά 60-70% (Böer et al., 2008).

Το μονοπάτι τις PKA διαμεσολαβεί για τη δράση ποικίλων νευροδιαβιβαστών συμπεριλαμβανομένης της ντοπαμίνης. Το λίθιο έχει δειχθεί ότι μειώνει την προσυναπτική ντοπαμινεργική δραστηριότητα και δρα μετασυναπτικά για την πρόληψη της προς τα πάνω ρύθμισης των υποδοχέων και της υπερευαισθησίας τους. Το σημαντικότερο άμεσα σχετιζόμενο εύρημα κλινικών μελετών είναι η μείωση των επιπέδων ομοβανιλικού οξέος, το οποίο αποτελεί ένα από τα πιο σταθερά επαναλαμβανόμενα ευρήματα στην κατάθλιψη. Ντοπαμινεργικοί αγωνιστές έχει δειχθεί ότι έχουν αντικαταθλιπτικές δράσεις σε κάποιους διπολικούς ασθενείς αλλά

επίσης μπορούν και να επάγουν μανία στον πληθυσμό αυτό (Marmol, 2008). Επιπλέον, τα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης της μεθαμφεταμίνης αυξάνουν τη ντοπαμινεργική δραστηριότητα στο νευρωνικό κύκλωμα ανταμοιβής. Η χρόνια χορήγηση λιθίου (για 14 ημέρες) έχει βρεθεί να μειώνει την επαγόμενη από μεθαμφεταμίνη (2mg/kg) αύξηση της έκφρασης της πρωτεΐνης Fos⁴¹ στον προμετωπιαίο φλοιό, τον κερκοφόρο πυρήνα, τον επικλινή πυρήνα και τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, υποδεικνύοντας τη δομική βάση των αντιμανιακών στόχων δράσης του λιθίου (Lee et al., 1999).

Ποικίλα βιοχημικά και ηλεκτροφυσιολογικά δεδομένα προτείνουν ότι η ντοπαμίνη εμπλέκεται στην θεραπευτική αποτελεσματικότητα του λιθίου (Houghoghi et al., 2009· Carli et al., 1994). Μελέτες υποστηρίζουν ότι το λίθιο επηρεάζει την σύζευξη (coupling) των πρωτεϊνών G με τους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς, δρώντας άμεσα στις πρωτεΐνες G και επηρεάζοντας τη ντοπαμινεργική δραστηριότητα μέσω της μείωσης της ικανότητας διέγερσης της αδενυλικής κυκλάσης (Carli et al., 1994). Επιπροσθέτως, όπως προαναφέραμε υπάρχουν στοιχεία για την ύπαρξη αυξημένων επίπεδων Ga_s σε διπολικούς ασθενείς (Andreopoulos et al., 2003· Dowlatshahi et al., 1999· Manji et al., 1995· Young et al., 1993). Επιπλέον, μελέτες εμπλέκουν τις Ga_i ως μοριακούς στόχους δράσης του λιθίου (Manji et al., 1995).

5.2.3.2. Επιδράσεις στο μονοπάτι της φωσφοϊνοσιτόλης και της PKC. Το λίθιο επηρεάζει το ενδοκυττάριο μονοπάτι της φωσφοϊνοσιτόλης σε πολλαπλά επίπεδα. Η υπόθεση εξάντλησης των επιπέδων ινοσιτόλης υποστηρίζει ότι το λίθιο ασκεί τις θεραπευτικές του δράσεις εξαντλώνοντας τα επίπεδα νευρωνικής μυοϊνοσιτόλης (Marmol, 2008). Όπως προαναφέραμε, στους στόχους δράσης του λιθίου περιλαμβάνονται η IPPάση και η IMPάση (Quiroz et al., 2004) αλλά και άλλα ένζυμα που εμπλέκονται στην ανακύκλωση της IP₃ (Nestler et al., 2008).

Η χρόνια χορήγηση λιθίου έχει δείχθει ότι μειώνει και τη δραστηριότητα της PKC όπως υποδηλώνεται από τη μείωση της φωσφορυλίωσης των υποστρωμάτων της (Szabo et al., 2009), ενώ η αναστολή αυτή φαίνεται ότι είναι έμμεση (Zarate & Manji, 2009· DiazGranados & Zarate, 2008). Οι Szabo και συνεργάτες (2009) έδειξαν

⁴¹ Η έκφραση του πρώιμου άμεσου γονιδίου (Immediate Early Gene, IEG) *c-fos* καθώς και του προϊόντος του, πρωτεΐνη Fos, αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για τον εντοπισμό νευρωνικής δραστηριότητας

μείωση της φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στην εκλεκτική για την PKC θέση, Ser⁸⁹⁶, ενώ άλλες μελέτες υποδεικνύουν μείωση της δραστηριότητας της PKC στον προμετωπιαίο φλοιό (Birnbbaum et al., 2004). Άλλες μελέτες έδειξαν ότι έπειτα από χρόνια χορήγηση λιθίου, η PKC μετατοπίζεται στην κυτταροπλασματική μεμβάνη (Du et al., 2004). Η αναστολή της PKC από το λίθιο αλλά και το VPA οδήγησε στην αντίληψη της χρήσης εκλεκτικών αναστολέων της PKC για τη θεραπεία της ΔΔ (Zarate & Manji, 2009). Έτσι η αναστολή της PKC από το λίθιο πιστεύεται ότι διαμεσολαβεί τις αντιμανιακές του δράσεις (βλ. ΣΧΗΜΑ Ε9. Φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας).

5.2.3.3. Επιδράσεις στην GSK-3. Το λίθιο αναστέλλει τη δραστηριότητα και των δύο ισομορφών της GSK-3, η οποία είναι αυθόρμητα ενεργή (Liang et al., 2008; Marmol, 2008). Πέρα της άμεσης αναστολής, το λίθιο έχει δείχθει ότι αναστέλλει και έμμεσα την GSK-3 μέσω φωσφορυλίωσης της GSK-3α στη Ser²¹ και της GSK-3β στη Ser⁹ από πολλαπλούς μηχανισμούς που εμπλέκουν την ενεργοποίηση της PKA, της PI3 εξαρτώμενης Akt, της PKC, καθώς και της αυτορύθμισης της GSK-3 (Liang et al., 2008). Η χρόνια χορήγηση λιθίου οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων β-catenin, γεγονός που αποτελεί δείκτη για την ικανότητα του λιθίου να ρυθμίζει την GSK-3 (Marmol, 2008).

Επιπροσθέτως, έχει προταθεί ότι το λίθιο αναστέλλει μανιακές συμπεριφορές που σχετίζονται με τη ντοπαμίνη αναστέλλοντας την GSK-3 μέσω του μονοπατιού της Akt (PKB) (Beaulieu et al., 2004). Το λίθιο αναστέλλει τη δραστηριότητα της GSK-3 τόσο άμεσα όσο και έμμεσα μέσω αναστολής της Akt (Marmol, 2008), ενώ η έμμεση αναστολή που ασκεί το λίθιο σχετίζεται με αποδιοργάνωση του συμπλόκου Akt/ PP2A και β-αρρεστίνη2 (Beaulieu et al., 2008).

Επιπλέον, φαρμακολογικός ή γενετικός ανασταλτικός χειρισμός της GSK-3β σε ποντίκια φαίνεται να οδηγεί στον ίδιο συμπεριφορικό φαινότυπο με αυτόν που παρατηρείται έπειτα από τη χορήγηση λιθίου (Beaulieu et al., 2004). Από την άλλη, υπερέκφραση της GSK-3β σε ποντίκια προκαλεί υπερδραστηριότητα και συμπεριφορές που προσομοιάζουν στη μανία (Marmol, 2008).

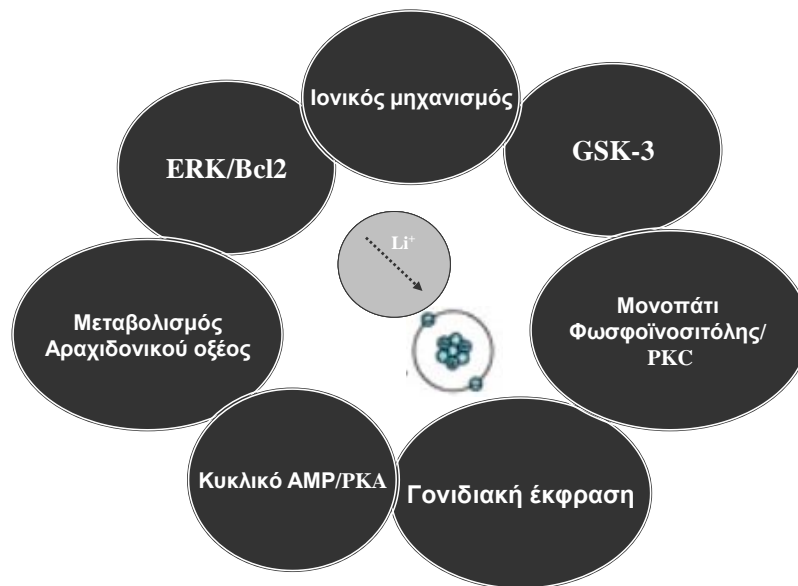
5.2.3.4. Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος. Το λίθιο μειώνει σημαντικά το ρυθμό ανακύκλωσης φωσφολιπιδίων, μείωση η οποία αγγίζει και το 80%, αναφορικά με την ανακύκλωση AO (Chang et al., 1997). Επιπροσθέτως, το λίθιο έχει δείχθει ότι μειώνει

την έκφραση γονιδίων και τα επίπεδα της πρωτεΐνης PLA₂ που είναι εκλεκτική για το ΑΟ καθώς και τα επίπεδα της πρωτεΐνης COX-2 (Stolk et al., 2010· Marmol, 2008· Lee et al., 2007).

Σε ένα μοντέλο οξειδωτικού στρες επαγόμενου από αμφεταμίνη έχει βρεθεί ότι το λίθιο ασκεί νευροπροστατευτικές δράσεις. Καθώς το οξειδωτικό στρες σχετίζεται με υπέρμετρη παραγωγή ελευθέρων ριζών, υπάρχει πιθανότητα αποδόμησης της μεμβράνης, κυτταρικής δυσλειτουργίας και απόπτωσης. Τα γεγονότα αυτά αμβλύνονται παρουσία αντιοξειδωτικών ενζύμων και σχετιζόμενων μηχανισμών συμπεριλαμβανομένων αυτών που σχετίζονται με την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Έτσι, φαίνεται ότι και αυτοί οι μηχανισμοί εμπλέκονται στις νευροπροστατευτικές επιδράσεις του λιθίου (Frey et al., 2006).

5.2.3.5. Επιδράσεις στο μονοπάτι των ERK/Bcl-2. Η ERK κατέχει κεντρικό ρόλο στη νευρογένεση, τη νευρωνική επιβίωση, την έκφυση νέων δενδριτών και τη συναπτική πλαστικότητα. Οι επιδράσεις αυτές διαμεσολαβούνται από την επαγόμενη από την ERK έκφραση τροφικών και προστατευτικών παραγόντων, όπως αντιαποπτωτικών παραγόντων του γονιδίου του Β κυττάρου λυμφομάτος/λευχαιμίας-2 (B cell lymphoma/leukaemia-2, Bcl-2). Πειραματόζωα με επαγόμενα ελλείμματα στο μονοπάτι αυτό επιδεικνύουν συμπεριφορικές αλλαγές που προσομοιάζουν σε κάποια συμπτώματα των διαταραχών του συναισθήματος, ενώ ανταποκρίνονται σε αγωγή με σταθεροποιητικά της διάθεσης (Chen & Manji, 2008· Newberg et al., 2008· Rosenberg, 2007).

Το λίθιο επηρεάζει το μονοπάτι των ERK/Bcl2 (Newberg et al., 2008· Zhou et al., 2005). Η χρόνια χορήγηση λιθίου αυξάνει σημαντικά την ενεργοποίηση της ERK στο φλοιό πρόσθια του προσαγωγίου και τον ιππόκαμπο, δύο εγκεφαλικές περιοχές που όπως είδαμε εμπλέκονται στο συναίσθημα. Επιπλέον, η χρόνια χορήγηση λιθίου διπλασιάζει τα επίπεδα της Bcl-2, ενώ το γονίδιο *BAG1* έχει ταυτοποιηθεί ως ο στόχος δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης (Newberg et al., 2008). Οι στόχοι δράσης του λιθίου παρουσιάζονται παρατάτω στο ΣΧΗΜΑ E26.



ΣΧΗΜΑ Ε26. Συνολική διαγραμματική παρουσίαση των στόχων δράσης του λιθίου.

5.3. Βαλπροϊκό οξύ (VPA). Μετά από περισσότερο από 40 χρόνια κλινικής χρήσης⁴², ο ακριβής μηχανισμός δράσης του VPA παραμένει ακόμα άγνωστος (D'Souza et al., 2009· Rosenberg, 2007). Πρόκειται για ένα μικρό λιπαρό οξύ (Szabo et al., 2009) που περιλαμβάνεται στην κατηγορία των αντιεπιληπτικών. Χορηγείται σε διάφορες νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές, από επιληπτικές κρίσεις και διαταραχές του συναισθήματος έως ημικρανία, νευροπαθητικό πόνο, εκ γενετής δυσμορφίες και αυτισμό (D'Souza et al., 2009). Στους πρωταρχικούς μηχανισμούς δράσης του βαλπροϊκού οξέος συμπεριλαμβάνεται η αύξηση των επιπέδων του GABA μέσω μείωσης του καταβολισμού του αλλά και μέσω αύξησης της σύνθεσής του (Rosenberg, 2007· Chang et al., 2001). Παράλληλα φαίνεται ότι επηρεάζει και συστήματα δευτέρων αγγελιοφόρων όπως αυτό του Wnt/ β catenin, της ERK καθώς και του μεταβολισμού ινοσιτόλης και αραχιδονικού οξέος. Ωστόσο, ο βαθμός στον οποίο η ρύθμιση των μονοπατιών αυτών σχετίζεται με την κλινική του αποτελεσματικότητα δεν έχει προσδιοριστεί μέχρι σήμερα (Rosenberg, 2007).

Στη ΔΔ, το VPA συνιστάται για τη θεραπεία της οξείας μανίας καθώς και ως θεραπεία συντήρησης για την πρόληψη της υποτροπής στη μανία (Rosenberg, 2007).

⁴² Από το 1962

5.3.1. Αύξηση επιπέδων GABA. Η βιοχημική επίδραση της οξεία χορήγησης VPA είναι η αύξηση των επιπέδων του GABA μέσω αναστολής της σουκινικής ημιαλδεύδης δευδρογονάσης, με επακόλουθη αύξηση των επιπέδων σουκινικής ημιαλδεύδης, ενός μεταβολίτη που αναστέλλει την GABA τρανσαμινάση και με τον τρόπο αυτό προλαμβάνει τον καταβολισμό του GABA (Rosenberg, 2007· Johannessen, 2000). Η συμβολή της GABAεργικής διευκόλυνσης στη θεραπεία της ΔΔ παραμένει απροσδιόριστη (Rosenberg, 2007).

5.3.2. Τασεοεξαρτώμενοι διάλυτοι Na^+ . Το VPA αναστέλλει τους τασεοεξαρτώμενους διαλύτες Na^+ , καταστέλλοντας τη δραστηριότητα νευρώνων υψηλής συχνότητας και πιθανώς έχοντας έμμεσες επιδράσεις στη μη-GABAεργική νευροδιαβίβαση (Rosenberg, 2007· Johannessen, 2000).

5.3.3. Μονοπάτι φωσφοϊνοσιτόλης/PKC. Το VPA σε κλινικά δραστικές δόσεις αποτελεί μη-συναγωνιστικό έμμεσο αναστολέα της ανθρώπινης φλοιϊκής συνθάσης της μυο-ινοσιτόλης, ενός ενζύμου που διαμεσολαβεί την *denovo* σύνθεση των υποστρωμάτων της ινοσιτόλης μονοφωσφατάσης, υποδεικνύοντας ότι όπως το λίθιο, έτσι και το VPA εξαντλεί τα επίπεδα ινοσιτόλης στον εγκέφαλο (Rosenberg, 2007). Επιπλέον, το VPA αναστέλλει έμμεσα τη δραστηριότητα της PKC (Szabo et al., 2009).

5.3.4. Επιδράσεις στο μονοπάτι των ERK/Bcl-2. Σε ανάλογες των κλινικώς χρησιμοποιούμενων συγκεντρώσεων, το VPA ενεργοποιεί την ERK (Rosenberg, 2007). Πιο συγκεκριμένα, η χρόνια χορήγηση VPA, όπως και η χρόνια χορήγηση λιθίου, αυξάνει σημαντικά την ενεργοποίηση της ERK στο φλοιό πρόσθια του προσαγωγίου και στον ιππόκαμπο, ενώ διπλασιάζει τα επίπεδα Bcl-2 στο φλοιό πρόσθια του προσαγωγίου, στην οδοντωτή έλικα και στο ραβδωτό (Newberg et al., 2008). Η φωσφορυλίωση της ERK έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Elk1 με την συνακόλουθη αύξηση της έκφρασης του c-Fos, ενός σημαντικού στοιχείου του μηχανισμού δράσης του VPA (Rosenberg, 2007). Ένας άλλος στόχος του μονοπατιού της ERK του οποίου η έκφραση έχει βρεθεί να αυξάνει έπειτα από *in vitro* έκθεση σε VPA είναι η πρωτεΐνη σχετιζόμενη με τον εκφυτικό κώνο-43 (GAP-43) που αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της νευρωνικής πλαστικότητας (Yuan et al., 2001). *In vivo*, το VPA έχει δειχθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα Bcl-2 στον προμετωπιαίο φλοιό επίμυων (Chen et al., 1999b). Επιπροσθέτως,

έχει δειχθεί ότι το VPA αυξάνει τα επίπεδα του BDNF στον ιππόκαμπο και τον προμετωπιαίο φλοιό επίμυων μέσω του μονοπατιού της ERK (Hao et al., 2004).

5.3.5. Επιδράσεις στο μονοπάτι των Wnt/GSK-3. Υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι το VPA αναστέλλει άμεσα την GSK-3β (Kim et al., 2005· Chen et al., 1999a). Παρ' όλα αυτά, τα δεδομένα αυτά δεν επιβεβαιώνονται σε όλες τις μελέτες, υποδεικνύοντας ότι η αναστολή της GSK-3β από το VPA μπορεί να είναι έμμεση (Rosenberg, 2007). Υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι το VPA αυξάνει τα επίπεδα της ανασταλτικής φωσφορυλίωσης της GSK-3β στη Ser⁹ στο μετωπιαίο φλοιό (Kozlovsky et al., 2006). Παρ' όλο που δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για την εμπλοκή διαταραχών στη μηνυματοδότηση Wnt/β catenin ή της GSK-3 σε ασθενείς με ΔΔ, δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο ότι το VPA ασκεί τις δράσεις του στη συμπτωματολογία της διαταραχής ρυθμίζοντας το μονοπάτι αυτό (Rosenberg, 2007).

5.3.6. Επιδράσεις στα λιπίδια και το μεταβολισμό τους. Το VPA, ως μικρό διακλαδισμένο (branched) λιπαρό οξύ όπως είναι λογικό επηρεάζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων. Υπάρχουν δεδομένα in vivo που υποδηλώνουν ότι το VPA ενσωματώνεται σε φωσφολιπίδια στον εγκέφαλο. Έχει δειχθεί ότι μέσω ενός άγνωστου μηχανισμού, το VPA μειώνει την ενσωμάτωση διαφορετικών υποστρωμάτων όπως η γλυκερόλη, η μεβαλονάτη και το γαλατικό τόσο στις στερόλες όσο και στα γλυκερολιπίδια σε διαφορετικές περιοχές του ΚΝΣ. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε δομικές αλλαγές και μειωμένη ρευστότητα των νευρωνικών μεμβρανών με συνακόλουθη αύξηση του ουδού νευρωνικής πυροδότησης (Rosenberg, 2007).

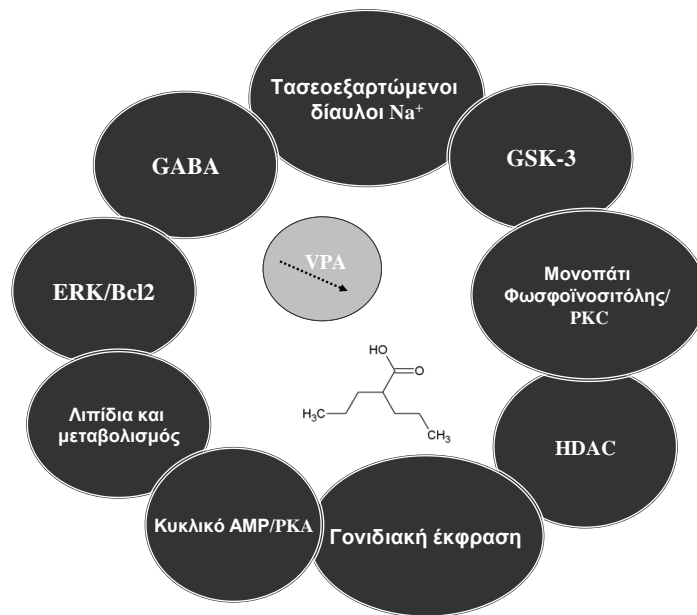
Το VPA αποτελεί επίσης άμεσο μη-συναγωνιστικό αναστολέα της μακράς αλυσίδας ακυλο-CoA (Coenzyme A, συνένζυμο A) συνθετάσης (Bazinet et al., 2006), ενός ενζύμου η αναστολή του οποίου οδηγεί σε μειωμένη διαθεσιμότητα αραχιδονουλ-CoA και εν συνεχεία σε μειωμένη ανακύκλωση αραχιδονικού οξέος στα φωσφολιπίδια και μειωμένη παραγωγή προσταγλανδίνων (Rosenberg, 2007).

5.3.7. Ενδοκυττάριο μονοπάτι του κυκλικού AMP. Υπάρχουν δεδομένα ότι το VPA ρυθμίζει και τη δραστηριότητα της PKA (Boeckeler, 2006). Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι η ρύθμιση της δραστηριότητας της PKA είναι έμμεση και

διαμεσολαβείται από την αναστολή της συσσώρευσης του κυκλικού AMP (Chang et al., 2010). Η φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη θέση φωσφορυλίωσης της PKA, τη Ser⁸⁴⁵ έχει βρεθεί μειωμένη έπειτα από την χορήγηση VPA (Du et al., 2007).

5.3.8. Αλλαγές σε γενωμικό επίπεδο-Γονιδιακή έκφραση. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι σε κάποιους ασθενείς καθώς και σε ζωικά μοντέλα παρατηρούνται επιδράσεις του VPA ακόμα και μερικές εβδομάδες μετά τη διακοπή της λήψης του (Rothrock & Mendizabal, 2000· Rho & Sankar, 1999· Rowan et al., 1979· Lockard & Levy, 1976). Το VPA ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων που εμπλέκονται στη ρύθμιση της μεταγραφής, στην κυτταρική επιβίωση, την ιοντική ομοιόσταση, κυτταροσκελετικές τροποποιήσεις και διαβίβαση σήματος. Αυτές οι επιδράσεις σχετίζονται με τις θεραπευτικές δράσεις του VPA και είναι αποτέλεσμα αύξησης της πρόσδεσης στο DNA της ενεργοποιητικής πρωτεΐνης-1 (activator protein-1 DNA binding) και άμεσης αναστολής των ιστονών διακετυλασών και πιθανώς επιπρόσθετων άγνωστων μηχανισμών (Rosenberg, 2007).

5.3.8.1. Ιστονική αποακετυλάση (histone deacetylase, HDAC). Η HDAC, είναι ένας από τους άμεσους στόχους δράσης του VPA (D'Souza et al., 2009· Newberg et al., 2008) και γι' αυτό αποτελεί και έναν από τους νεότερους στόχους ανάπτυξης εκλεκτικών σταθεροποιητικών της διάθεσης. Οι HDAC είναι ένζυμα που ρυθμίζουν την ακετυλίωση/αποακετυλίωση των ιστονών, και με τον τρόπο αυτό ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση. Λανθασμένη ρύθμιση και διατάραξη της δραστηριότητας ιστονών ακετυλασών (histone acetylases, HATs) και HDACs έχειδειχθεί ότι εμπλέκεται σε νευρωνική δυσλειτουργία και εκφυλισμό. Ένας από τους μηχανισμούς με τους οποίους το VPA ρυθμίζει την γονιδιακή έκφραση είναι μέσω της δράσης του στις HDAC (Newberg et al., 2008).



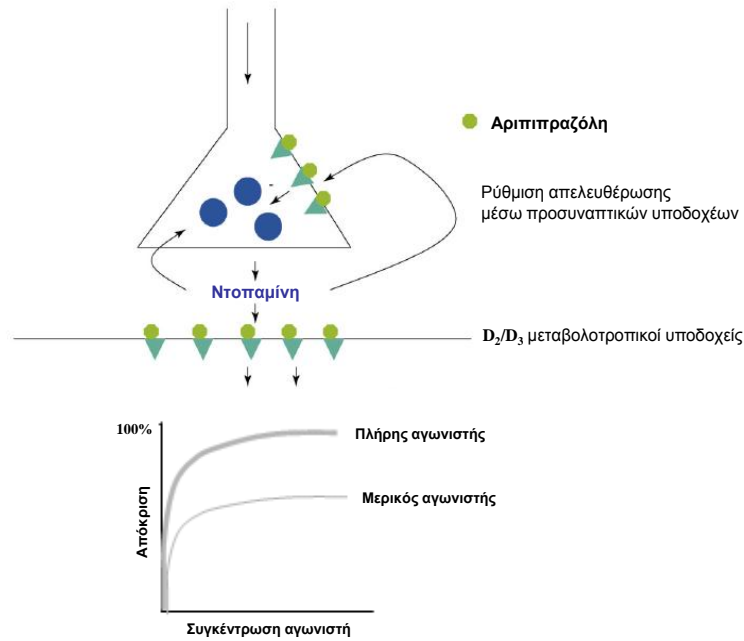
ΣΧΗΜΑ E27. Συνολική διαγραμματική παρουσίαση των στόχων δράσης του VPA.

5.4. Αριπιπραζόλη. Η αριπιπραζόλη είναι ένα δεύτερης γενιάς άτυπο αντιψυχωσικό που από το 2002 έχει εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία της σχιζοφρένειας και από το 2004 αποτελεί εγκεκριμένη θεραπεία για το οξύ μανιακό και μεικτό επεισόδιο για τη ΔΔ ενώ ένα χρόνο μετά εγκρίθηκε και ως θεραπεία συντήρησης (Tsai et al., 2011). Είναι ο πρώτος εγκεκριμένος μερικός αγωνιστής των D₂/D₃ ντοπαμινεργικών υποδοχέων για τη θεραπεία ευρέος φάσματος ψυχιατρικών και νευρολογικών διαταραχών. Πέρα των δράσεών της στους D₂ υποδοχείς, δρα και ως μερικός αγωνιστής στους 5-HT_{1A} υποδοχείς σεροτονίνης έχοντας χαμηλή έως μέτρια ενδογενή δραστηριότητα (Βλ. ΣΧΗΜΑ E29, Tadori et al., 2011· Mailman & Murthy, 2010· Fleischhacker, 2005· Hirose & Kikuchi, 2005· Shapiro et al., 2003). Λόγω του ότι δρα ως μερικός αγωνιστής χαρακτηρίζεται και ως σταθεροποιητής της ντοπαμίνης και της σεροτονίνης (Mailman & Murthy, 2010· Zhang et al., 2006). Επιπροσθέτως, η αριπιπραζόλη δρα και ως ανταγωνιστής των 5-HT₂ υποδοχέων σεροτονίνης (Fleischhacker, 2005· Hirose & Kikuchi, 2005). Η δράση της αριπιπραζόλης στους 5-HT_{2A} υποδοχείς είναι δράση μερικού αγωνιστή με χαμηλή ενδογενή δραστηριότητα, ενώ η δράση της στους 5-HT_{2B} υποδοχείς είναι δράση αντίστροφου αγωνιστή (Hirose & Kikuchi, 2005).

Οι μερικοί αγωνιστές παρουσιάζουν πλήρη συγγένεια με τον υποδοχέα αλλά η ενδογενής δραστηριότητά τους είναι μικρότερη από αυτή των πλήρων αγωνιστών (Hirose & Kikuchi, 2005). Σε μια *in vitro* μελέτη σε μεμβράνες κυττάρων CHO (Chinese Hamster Ovary) οι οποίες εξέφραζαν τον ανασυνδυασμένο D₂ ανθρώπινο υποδοχέα βρέθηκε ότι η αριπιπραζόλη έχει μεγαλύτερη συγγένεια με τον υποδοχέα από ότι η ίδια η ντοπαμίνη αλλά δρα ως μερικός αγωνιστής. Η μελέτη αυτή υπέδειξε ότι η αριπιπραζόλη ενεργοποίησε την διαμεσολαβούμενη από τους D₂ υποδοχείς αναστολή της συσσώρευσης κυκλικού AMP, ενώ η σταδιακή αύξηση της δόσης της ανέστειλε τις δράσεις της ντοπαμίνης, γεγονός που συνάδει με το προφίλ του μερικού αγωνιστή (Burriss et al., 2002). Γενικά, οι D₂ μερικοί αγωνιστές δρουν ως αγωνιστές των προσυναπτικών D₂ υποδοχέων αλλά ως ανταγωνιστές των μετασυναπτικών υποδοχέων (Hirose & Kikuchi, 2005).

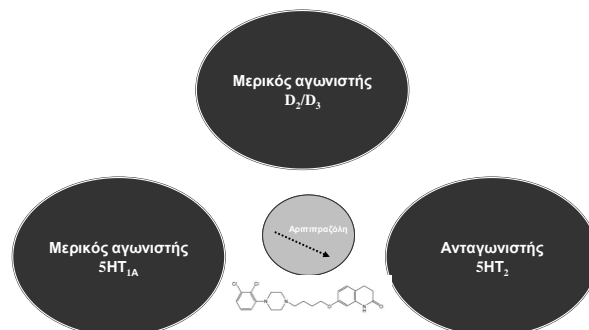
Ουσιαστικά, οι μερικοί αγωνιστές ρυθμίζουν τα επίπεδα ντοπαμίνης με βάση τη διαθεσιμότητά της. Σε υψηλές εξωκυττάριας συγκεντρώσεις ντοπαμίνης όπως π.χ. στις υποφλοιικές μεταιχμιακές περιοχές σε σχιζοφρενείς ασθενείς που χαρακτηρίζονται από θετική συμπτωματολογία, η αριπιπραζόλη δρα ανταγωνιστικά στη ντοπαμίνη. Αντίθετα, σε περιπτώσεις όπου οι εξωκυττάριας συγκεντρώσεις ντοπαμίνης είναι χαμηλές, όπως π.χ. στον προμετωπιαίο φλοιό των σχιζοφρενών ασθενών, το φάρμακο μπορεί να καταλάβει επιπρόσθετους υποδοχείς οδηγώντας σε μερική ενεργοποίηση (Βλ. ΣΧΗΜΑ Ε30, Mailman & Murthy, 2010· Hirose & Kikuchi, 2005). Έτσι, οι δράσεις της αριπιπραζόλης θεωρείται ότι χαρακτηρίζονται από λειτουργική εκλεκτικότητα (Shapiro et al., 2003).

Ασκή την κλινική της αποτελεσματικότητα χωρίς σημαντικό βαθμό καταστολής και με σχετικά λίγες ανεπιθύμητες ενέργειες (Tadori et al., 2011). Η σύγχρονη βιβλιογραφία υποδεικνύει ότι η αριπιπραζόλη πλην της αποτελεσματικότητάς της στη σχιζοφρένεια και τη ΔΔ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και στη θεραπεία καταστάσεων όπως ο εθισμός σε κοκαΐνη (Meini et al., 2011· Feltenstein et al., 2009· Haney & Spealman, 2008· Sørensen et al., 2008· Feltenstein et al., 2007).



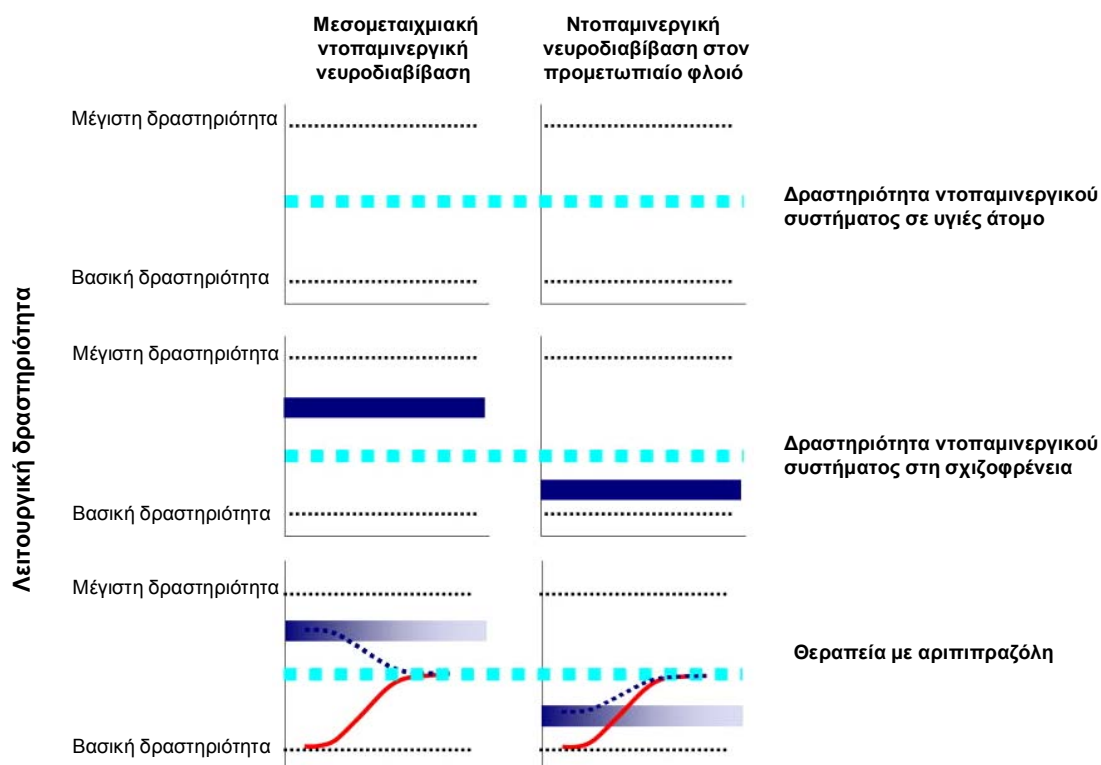
ΣΧΗΜΑ E28. Ρύθμιση ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης. Η αριπιπραζόλη αναστέλλει τη δράση της ντοπαμίνης στους D_2/D_3 υποδοχείς καταστέλλοντας υπερδραστήρια ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση (πάνω) (Από Strange, 2008). Απόκριση μερικού αγωνιστή σε σχέση με τον πλήρη αγωνιστή (κάτω).

Τέλος, η αριπιπραζόλη έχει δείχθει να μειώνει την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος σε απομονωμένα συναπτοσώματα⁴³ φλοιού επίμου (Yang & Wang, 2008). Πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αριπιπραζόλη προστατεύει από την επαγόμενη από γλουταμινικό οξύ τοξικότητα (Korpinica et al., 2011· Matsuo et al., 2010). Έτσι, ντοπαμινεργικό και γλουταμινεργικό κύκλωμα φαίνεται ότι αλληλεπιδρούν και στην περίπτωση της αριπιπραζόλης



ΣΧΗΜΑ E29. Συνολική διαγραμματική παρουσίαση των στόχων δράσης της αριπιπραζόλης.

⁴³ Τελικές απολήξεις κυττάρων



ΣΧΗΜΑ Ε30. Ρύθμιση ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης από την αριπιπραζόλη. Οι μερικοί αγωνιστές ρυθμίζουν τα επίπεδα ντοπαμίνης με βάση τη διαθεσιμότητά της. Αριστερή στήλη: Μεσομεταιχμιακή ντοπαμινεργική οδός. Δεξιά στήλη: Δραστηριότητα προμετωπιαίου φλοιού. Πάνω παρουσιάζεται η φυσιολογική ντοπαμινεργική δραστηριότητα σε ένα υγιές άτομο. Στη μέση παρουσιάζεται η υπερδραστηριότητα των μεταιχμιακών περιοχών όπως παρατηρείται σε σχιζοφρενείς ασθενείς παρουσία θετικής συμπτωματολογίας (αριστερή στήλη) και η ντοπαμινεργική υποδραστηριότητα στον προμετωπιαίο φλοιό σε σχιζοφρενείς ασθενείς (δεξιά στήλη). Κάτω παρουσιάζονται οι ρυθμιστικές επιδράσεις της αριπιπραζόλης. Η συνεχής σιγμοειδής γραμμή αντικατοπτρίζει τις δράσεις του μερικού αγωνιστή. Η διακεκομμένη σιγμοειδής γραμμή αντικατοπτρίζει τις δράσεις του μερικού αγωνιστή παρουσία ενδογενών συγκεντρώσεων ντοπαμίνης (Μεταφρασμένο από Mailman & Murthy, 2010).

6. Ζωικά μοντέλα για τη διπολική διαταραχή - Η θεωρία των ενδοφαινοτύπων. Η έρευνα για τη ΔΔ, αλλά και γενικότερα τις νευροψυχιατρικές διαταραχές, στοχεύει στη διαλεύκανση του νευροβιολογικού υποστρώματος και της γενετικής της νόσου καθώς και των παραγόντων που σχετίζονται με την απόκριση στη θεραπεία. Ωστόσο, η ετερογένεια του κλινικού φαινοτύπου αποτελεί ένα από τα μείζονα προβλήματα στην προσπάθεια διευκρίνησης του βιολογικού υποστρώματος της διαταραχής (Hasler et al., 2006).

Το γεγονός ότι μέχρι και σήμερα έχουμε στη διάθεσή μας ένα περιορισμένο αριθμό ζωικών μοντέλων για τη μελέτη της ΔΔ, αποτελεί τροχοπέδη για τη σε βάθος συμπεριφορική, βιοχημική, ιστολογική και φαρμακολογική ανάλυση, στην προσπάθεια διαλεύκανσης της υποκείμενης νευροβιολογίας της διαταραχής καθώς και στην προσπάθεια ανάπτυξης νέων φαρμακοθεραπειών (Gould & Einat, 2007). Παρ' όλο που έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την ανάπτυξη ζωικών μοντέλων που να αντικατοπτρίζουν το πλήρες φάσμα και την κυκλικότητα της ΔΔ, μέχρι και σήμερα δεν έχουμε στη διάθεσή μας κάποιο τέτοιο περιεκτικό μοντέλο (Einat, 2006).

Η δημιουργία ζωικών μοντέλων για τη ΔΔ είναι προβληματική για πολλούς λόγους. Πρώτον, υπάρχει πρόβλημα στη μοντελοποίηση διαταραχών που δεν έχουν αποδεδειγμένους βιοδείκτες (biomarkers) για την ασθένεια ή τις επιδράσεις των θεραπειών. Επιπλέον, η μοντελοποίηση του ανθρώπινου συναισθήματος αποτελεί σημείο αμφιλεγόμενο και προβληματικό καθώς προϋποθέτει την παραδοχή ότι τα ζώα έχουν «συναίσθημα». Τέλος, ειδικά για τη ΔΔ, η κυκλική της φύση δημιουργεί ένα επιπρόσθετο επίπεδο πολυπλοκότητας (Gould & Einat, 2007).

Σήμερα, οι επιστήμονες κατά κανόνα αξιοποιούν ξεχωριστά μοντέλα για τη μελέτη της καταθλιπτικής και της μανιακής φάσης της νόσου (Einat, 2006). Αν και διαθέτουμε αρκετά ζωικά μοντέλα για τη μελέτη της καταθλιπτικής φάσης της νόσου, δεν ισχύει το ίδιο και για τη μανιακή φάση της ΔΔ. Έτσι υπάρχει έντονη ανάγκη για την ανάπτυξη απλών, αξιόπιστων και εύκολα επαγόμενων μοντέλων για τη μελέτη της μανιακής φάσης της νόσου, τα οποία να μπορούν να αξιοποιηθούν και για τη μελέτη νέων πιθανών φαρμακευτικών αγωγών (Einat, 2006). Νεότερες κατευθύνσεις στην έρευνα βασίζονται στη θεωρία των ενδοφαινοτύπων που πρεσβεύει τη μελέτη συγκεκριμένων συμπεριφορικών αλλαγών σε ζώα που μοντελοποιούν συγκεκριμένες πτυχές της διαταραχής (Einat, 2006· 2007).

Ο όρος «ενδοφαινότυπος» αναφέρεται σε ένα ενδότερο, ενδιάμεσο φαινότυπο ο οποίος καλύπτει το κενό στην αιτιώδη αλυσίδα μεταξύ γονιδίων και ασθένειας και

γι' αυτό μπορεί να βοηθήσει στην επίλυση ερωτημάτων σχετικά με την αιτιολογία (Hasler et al., 2006). Οι ενδοφαινότυποι παρέχουν ένα μέσο για την ταυτοποίηση «ανάντη» χαρακτηριστικών υποκείμενων κλινικών φαινοτύπων καθώς και «κατάντη» βιολογικών συνεπειών γονιδίων, ενώ στις μεθόδους ταυτοποίησής ενδοφαινότυπων περιλαμβάνονται νευροψυχολογικές, νευροφυσιολογικές, νευροανατομικές, απεικονιστικές και βιοχημικές μετρήσεις (Hasler et al., 2006).

Με βάση τη θεωρία των ενδοφαινοτύπων ο αριθμός των γονιδίων που εμπλέκονται στον εκάστοτε ενδοφαινότυπο είναι μικρότερος και αναπαριστά πιο πρωταρχικά φαινόμενα σε σχέση με την «πλήρη» ασθένεια/το πλήρες φάσμα της ασθένειας (Hasler et al., 2006). Στην ευρεία κατηγορία των «ενδοφαινοτύπων» υπάρχει μια διαβάθμιση όπου από τη μία έχουμε ενδοφαινότυπους σχετιζόμενους με γονίδια («γονότυπο») και από την άλλη αυτούς που σχετίζονται με συμπτώματα και την ίδια την ασθένεια («φαινότυπο») (Hasler et al., 2006).

Οι υποψήφιοι ενδοφαινότυποι εγκεφαλικής λειτουργίας για τη ΔΔ περιλαμβάνουν ελλείμματα προσοχής, ελλείμματα στη λεκτική μάθηση και μνήμη, γνωσιακά ελλείμματα έπειτα από κένωση τρυπτοφάνης, αστάθεια καρδιακού ρυθμού και απορρύθμιση της κινητοποίησης και της ενίσχυσης (Hasler et al., 2006). Η παρούσα διδακτορική διατριβή επικεντρώνεται στον ενδοφαινότυπο απορρύθμισης της κινητοποίησης και της ενίσχυσης που όπως προαναφέραμε παρατηρείται στη ΔΔ.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε6.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΝΔΟΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ (Hasler et al., 2006)

Σχετίζεται με την ασθένεια στον πληθυσμό

Είναι κληρονομήσιμος

Είναι ανεξάρτητος με την κατάσταση της διαταραχής (αν η ασθένεια είναι ενεργός ή ανενεργός)

Εντός των οικογενειών, ο ενδοφαινότυπος συνυπάρχει με την ασθένεια

Ο ενδοφαινότυπος παρατηρείται στους υγιείς συγγενείς σε μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό

Οι ενδοφαινότυποι πρόκλησης συμπτωμάτων, αναφέρονται σε συμπεριφορικές ή/και νευροβιολογικές αποκρίσεις σε φαρμακολογικά ή

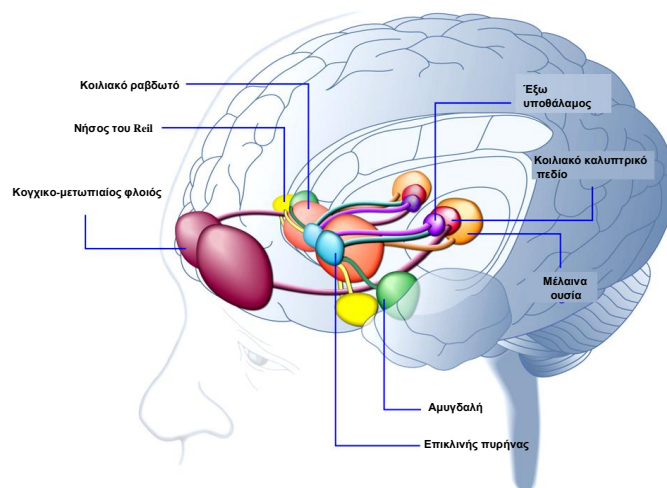
συμπεριφορικά ερεθίσματα που παρουσιάζονται στον άνθρωπο ή σε πειραματόζωα. Τα συμπτώματα ή οι αποκρίσεις στόχοι είναι επιλεγμένα αναφορικά με τη βιολογική βάση του μηχανισμού ή τη συμπτωματολογία της παθοφυσιολογίας με την οποία σχετίζονται. Οι ενδοφαινότυποι πρόκλησης συμπτωμάτων είναι πιο ειδικοί για τη διαταραχή και γεφυρώνουν το χάσμα μεταξύ βασικής έρευνας και κλινικής συμπτωματολογίας (Hasler et al., 2006). Καθώς στη διατριβή αυτή στοχεύσαμε στη μελέτη της απορρύθμισης της κινητοποίησης και της ενίσχυσης που παρατηρείται κατά τη μανιακή φάση της ΔΔ, το σύμπτωμα που μας ενδιέφερε να αναπαράγουμε ήταν η αυξημένη κινητοποίηση και ενίσχυση, που ως γνωστόν χαρακτηρίζει ασθενείς με ΔΔ.

Οι επαγόμενες από ψυχοδιεγερτικά συμπεριφορές σχετίζονται με βιοχημικές αλλαγές που μπορεί να σχετίζονται με τη ΔΔ συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης ηδονής, της υπερδραστηριότητας, της στερεοτυπίας ή της σεξουαλικής υπερδραστηριότητας (Gould & Einat, 2007). Καθώς η αμφεταμίνη ασκεί δράσεις στον άνθρωπο που προσομοιάζουν με την ιδιοπαθή μανία, η χορήγηση αμφεταμίνης σε πειραματόζωα έχει προταθεί ως μοντέλο της μανιακής κατάστασης (Lee et al., 1999). Τα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης της αμφεταμίνης, αυξάνουν την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού σε επίμυες (Galo et al., 2010; Bossert & Franklin, 2003; Gallistel & Karras, 1984; Cassens & Mills, 1973), γεγονός που υποδεικνύει ότι οδηγούν σε υπερδραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής. Ο ενδοφαινότυπος αυτός παρουσιάζει υψηλή συσχέτιση με την αυξημένη κινητοποίηση και ηδονική ορμή που παρατηρείται στους διπολικούς ασθενείς και για το λόγο αυτό αξιοποιήθηκε στις μελέτες της παρούσας διατριβής.

7. Διαταραχή του νευρωνικού κυκλώματος ανταμοιβής και συναφών λειτουργιών στη ΔΔ. Η απώλεια ενδιαφέροντος, η έλλειψη απαντητικότητας σε ενισχυτικά/ευχάριστα γεγονότα και η ανηδονία αποτελούν κάποια από τα κύρια συμπτώματα της καταθλιπτικής φάσης της ΔΔ (Pizzagalli et al., 2008; Hasler et al., 2006), ενώ η αυξημένη κινητοποίηση και η αυξημένη αναζήτηση ηδονικών ερεθισμάτων που ορισμένες φορές φτάνει στο σημείο καταναγκαστικής αναζήτησης ενισχυόμενων συμπεριφορών συμπεριλαμβάνονται στα πυρηνικά συμπτώματα της μανιακής φάσης της ΔΔ (Flaisher-Grinberg et al., 2009; Van der Gucht et al., 2009; Pizzagalli et al., 2008; Abler et al., 2007; Hasler et al., 2006). Εύλογα έχει

υποστηριχθεί ότι μπορεί να υπάρχει κάποια δυσλειτουργία στα εγκεφαλικά συστήματα ανταμοιβής στους ασθενείς με ΔΔ και γι' αυτό να αποκρίνονται μ' αυτό τον τρόπο στα ενισχυτικά ερεθίσματα (Strakowski et al., 2009· Abler et al., 2007). Μελέτες σε διδύμους αλλά και ευρύτερα εντός οικογενειών υποδεικνύουν υψηλή κληρονομικότητα ελλειμμάτων της λειτουργίας του κυκλώματος ανταμοιβής (Hasler et al., 2006) ενώ η σχετιζόμενη συμπτωματολογία εμφανίζεται σε σχετικά νεαρή ηλικία (Mueller et al., 2010· Ernst et al., 2004).

Στοιχεία από μελέτες στον άνθρωπο και άλλα πρωτεύοντα έχουν συσχετίσει τη δραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής με νευρωνική δραστηριότητα στο κοιλιακό ραβδωτό και τον έσω προμετωπιαίο φλοιό (Hasler et al., 2006· Schultz, 2002). Η ευφορία έχει συσχετιστεί με την επαγόμενη από αμφεταμίνη απελευθέρωση ντοπαμίνης στο κοιλιακό ραβδωτό στον άνθρωπο (Drevets et al., 2001). Σε μοριακό επίπεδο, έχει βρεθεί αυξημένη δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον επικλινή πυρήνα ως απόκριση σε επαγόμενη από ενισχυτικά ερεθίσματα υπερδιέγερση (Nestler, 2004). Επιπροσθέτως, η χορήγηση αμφεταμίνης έχει βρεθεί να έχει αυξημένες ενισχυτικές δράσεις σε ασθενείς με διαταραχές του συναισθήματος και να επάγει μανία σε ασθενείς με ΔΔ αντικατοπτρίζοντας δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος ανταμοιβής (Tremblay et al., 2002).

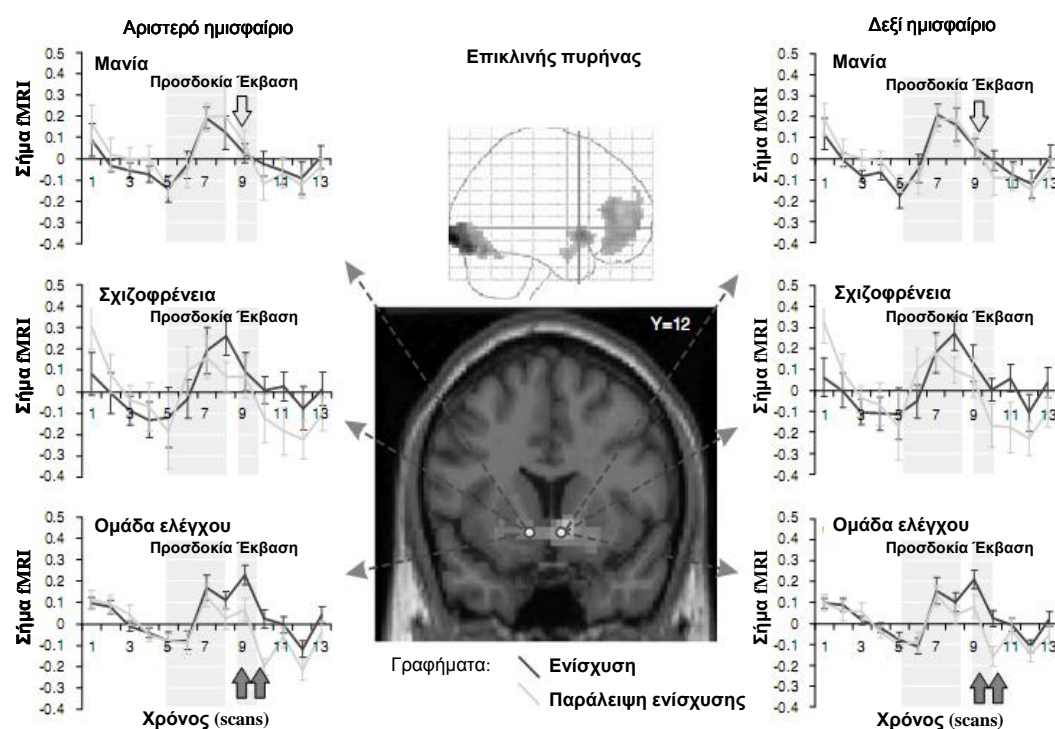


ΣΧΗΜΑ Ε31. Περιοχές εμπλεκόμενες στο κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου. (Μεταφρασμένο από Kenny, 2011).

Η αυξημένη απαντητικότητα παρουσία ορεξιογόνων ερεθισμάτων και η μειωμένη απαντητικότητα παρουσία αποστροφικών ερεθισμάτων έχει συσχετιστεί με δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής στη μανία (Βλ. ΣΧΗΜΑ E31). Κατά την πραγματοποίηση της νευροψυχολογικής δοκιμασίας καθυστέρησης του χρηματικού κινήτρου (monetary incentive delay task) βρέθηκε διαφορετική ενεργοποίηση του κογκικο-μετωπιαίου φλοιού στους μανιακούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα, στη μελέτη αυτή δεν βρέθηκαν διαφορές ως προς την ενεργοποίηση του κοιλιακού ραβδωτού μεταξύ ασθενών και υγιών υποκειμένων (Bermpohl et al., 2010). Επιπρόσθετες έρευνες υποδεικνύουν μειωμένη και καθυστερημένη ανάπτυξη απαντητικότητας έναντι ερεθισμάτων που πιο συχνά παρουσιάζονται ενισχυτικά, εύρημα που υποδεικνύει μειωμένη ικανότητα μάθησης ενισχυτών (Pizzagalli et al., 2008).

Οι Abler και συνεργάτες σε μια μελέτη τους εξέτασαν πώς επηρεάζει η προσδοκία και η λήψη ενίσχυσης τη δραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου σε μανιακούς και σχιζοφρενείς ασθενείς. Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια καθώς και η ομάδα ελέγχου έδειξε την προσδοκώμενη ενεργοποίηση ντοπαμινεργικών περιοχών. Συγκεκριμένα, στις ομάδες αυτές παρατηρήθηκε ενεργοποίηση του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου κατά την προσδοκία ενισχυτών και του επικλινούς πυρήνα κατά την λήψη σε σχέση με την παράληψη ενισχυτών. Οι μανιακοί ασθενείς ωστόσο δεν παρουσίασαν την αναμενόμενη ενεργοποίηση των εγκεφαλικών αυτών περιοχών, ενώ η ενεργοποίηση του επικλινούς πυρήνα κατά την λήψη έναντι της παράληψης των προσδοκώμενων ενισχυτών ήταν σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τα υγιή υποκείμενα. Τα ευρήματα της μελέτης αυτής υποδεικνύουν την ύπαρξη δυσλειτουργιών στο ντοπαμινεργικό σύστημα κατά την λήψη ή παράληψη προσδοκώμενων ενισχυτών (Βλ. ΣΧΗΜΑ E32, Abler et al., 2007).

Από άλλες μελέτες έχουν βρεθεί διαφορές στον όγκο της ηνίας. Η ηνία κατέχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της μονοαμινεργικής νευροδιαβίβασης και ρυθμίζει την καταστολή της δραστηριότητας των ντοπαμινεργικών κυττάρων απουσία των προσδοκώμενων ενισχυτών. Έτσι, η μείωση του όγκου της ηνίας μπορεί να οδηγεί στις λειτουργικές συνέπειες που παρατηρούνται στη διαταραχή (Savitz et al., 2011).



ΣΧΗΜΑ E32. Δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής στην μανία. Διαφορετική ενεργοποίηση του επικλινούς πυρήνα (αριστερού και δεξιού ημισφαιρίου) κατά την λήψη και παράλειψη ενίσχυσης στο πέρασμα του χρόνου μεταξύ μανιακών ασθενών, σχιζοφρενών ασθενών και της ομάδας ελέγχου. Στην ομάδα ελέγχου παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ενεργοποίηση του επικλινούς πυρήνα κατά την λήψη σε σχέση με την παράληψη ενίσχυσης. Αντίθετα, στην ομάδα μανιακών ασθενών η διαφορά της ενεργοποίησης του επικλινούς πυρήνα κατά τις δύο πειραματικές συνθήκες ήταν σημαντικά μικρότερη, υποδεικνύοντας λειτουργική ανωμαλία του κυκλώματος ανταμοιβής στη μανία. Ο ενδοφαινότυπος αυτός φαίνεται να είναι ειδικός για τη μανία καθώς τα ελλείμματα αυτά δεν παρατηρούνται σε σχιζοφρενείς ασθενείς. Τα ↓ υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές με την ομάδα ελέγχου για $p < 0.05$ (Μεταφρασμένο από Abler et al., 2007).

Η ΔΔ έχει συσχετιστεί με υψηλού κινδύνου συμπεριφορές όπως η ενασχόληση με τυχερά παιχνίδια και η παρορμητικότητα (Chandler et al., 2009). Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν διαφορετική ενεργοποίηση του κοιλιακού μετωπιαίου πόλου διπολικών ασθενών κατά την πραγματοποίηση του Iowa Gambling Task το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως έργο σχετιζόμενο με την επεξεργασία ενισχυτών. Επιπροσθέτως, έχει βρεθεί ότι οι διπολικοί ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένη ενεργοποίηση του φλοιού πρόσθια του προσαγωγίου κατά την πραγματοποίηση του έργου αυτού (Jogia et al., 2011). Παράλληλα, προγενέστερες μελέτες έχουν υποδείξει

μειωμένο όγκο της περιοχής αυτής σε ασθενείς με ΔΔ (Baloch et al., 2010· Drevets et al., 2008· Hirayasu et al., 1999· Drevets et al., 1997).

Άλλες μελέτες έχουν εκτιμήσει την επίδραση των ενισχυτών σε σχέση με την επίδραση των τιμωριών σε διαδικασίες λήψης αποφάσεων υψηλού ρίσκου. στις μελέτες αυτές, μέσα από σχετικές νευροψυχολογικές δοκιμασίες βρέθηκε ότι τα αν και τα υγιή υποκείμενα πραγματοποιούσαν περισσότερες ριψοκίνδυνες επιλογές για την αποφυγή τιμωριών σε σχέση με ριψοκίνδυνες επιλογές για την λήψη ενισχυτών, η τάση αυτή ήταν εξασθενημένη στους διπολικούς ασθενείς. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι οι σχετιζόμενες με ενισχυτές ριψοκίνδυνες επιλογές παρουσιάζουν μειωμένη ευαισθησία συναισθηματικού σθένους (ενίσχυση ή τιμωρία) στη ΔΔ (Chandler et al., 2009).

Αρκετές μελέτες έχουν επίσης αναδείξει δυσλειτουργίες σχετιζόμενες με τη λειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής και σε παιδιατρικούς διπολικούς ασθενείς (Dickstein et al., 2010· Mueller et al., 2010). Έτσι, νευροψυχολογικά έργα για τη μελέτη της ανάστροφης μάθησης, συνδυασμένα με νευροαπεικονιστικές τεχνικές (fMRI, functional Magnetic Resonance Imaging, λειτουργική Μαγνητική Τομογραφία) έχουν αναδείξει δυσλειτουργική επεξεργασία αναστροφής της αποκτημένης μάθησης ερεθίσματος/αντίδρασης όταν απαιτείται η αναστροφή ερεθίσματος/ενισχυτή. Η δυσλειτουργία αυτή πηγάζει από την αναποτελεσματική ενεργοποίηση περιοχών σχετιζόμενων με την επεξεργασία απόκρισης σε αντιθέσεις και με την εκτέλεση εναλλακτικών αντιδράσεων. Τα ανωτέρω σχετίζονται με τη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού και φλοϊικών περιοχών του βρεγματικού λοβού (Dickstein et al., 2010). Συνολικά, τα παραπάνω ευρήματα στηρίζουν την υπόθεση ύπαρξης δυσλειτουργιών στην επεξεργασία των ενισχυτών.

Προς την ίδια κατεύθυνση, ύπαρξης δυσλειτουργιών στο κύκλωμα ανταμοιβής, φαίνεται να κινούνται και τα ευρήματα μελετών που αξιοποιούν ποικίλα ζωικά μοντέλα μανίας. Στο πρότυπο της κατανάλωσης σακχαρόζης, για τη μελέτη της ενίσχυσης, τα ποντίκια Black Swiss, τα οποία υποστηρίζεται ότι παρουσιάζουν συμπεριφορικό φαινότυπο που προσομοιάζει στη μανία, παρουσιάζουν και αυξημένη κατανάλωση σακχαρόζης (Flaisher-Grinberg et al., 2009). Επιπροσθέτως, ποντίκια που παρουσιάζουν μετάλλαξη στο γονίδιο *CLOCK* και εμφανίζουν μανιακού τύπου

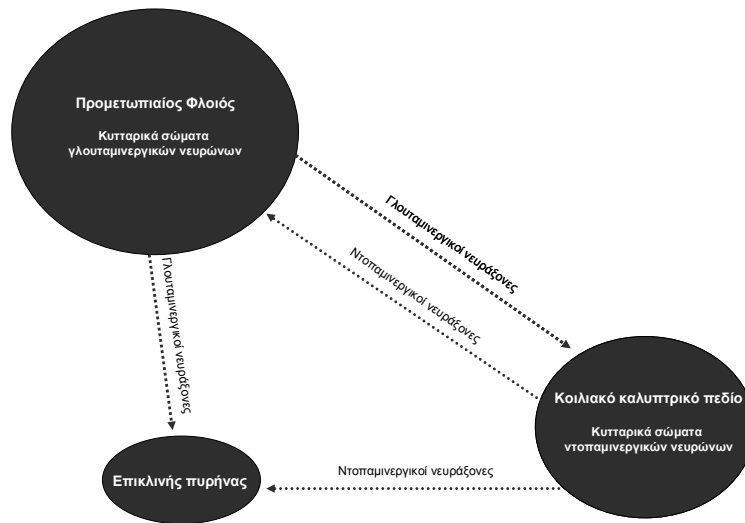
συμπεριφορές, παρουσιάζουν αυξημένη προτίμηση για ενισχυτικά ερεθίσματα (Roybal et al., 2007).

Συμπερασματικά, οι σχετιζόμενες με διεργασίες ενίσχυσης συμπεριφορές παρουσιάζουν δυσλειτουργίες στη ΔΔ (Pizzagalli et al., 2008; Wright et al., 2008) γεγονός που σχετίζεται με δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής (Strakowski et al., 2009; Abler et al., 2007). Νευροψυχολογικές δοκιμασίες υποστηρίζουν την ύπαρξη δυσλειτουργιών σε πολλαπλά επίπεδα αναφορικά με την επεξεργασία ενισχυτών ενώ νευροαπεικονιστικές μελέτες έχουν αναδείξει λειτουργικές δυσλειτουργίες στην ενεργοποίηση των σχετικών εγκεφαλικών περιοχών (Jogia et al., 2011; Abler et al., 2007). Περαιτέρω στήριξη στα δεδομένα αυτά παρέχουν ποικίλα ζωικά μοντέλα μανίας καθώς και οι επιδράσεις των ψυχοδιεγερτικών, τόσο στον άνθρωπο όσο και στα πειραματόζωα, που σχετίζονται με αύξηση της δραστηριότητας του νευρωνικού κυκλώματος ανταμοιβής.

7.1. Αλληλεπίδραση ντοπαμινεργικού κυκλώματος ανταμοιβής και γλουταμινεργικού συστήματος. Ανατομικά στοιχεία υποδεικνύουν την ύπαρξη αλληλεπίδρασης ντοπαμινεργικών και γλουταμινεργικών νευρώνων σε ένα κύκλωμα που εμπλέκει φλοιϊκά, μεσεγκεφαλικά και μονοπάτια του ραβδωτού. Για παράδειγμα διεγερτικές προβολές από τον προμετωπιαίο φλοιό στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο ρυθμίζουν τη δραστηριότητα των ντοπαμινεργικών νευρώνων στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο. Η «επικοινωνία» ωστόσο είναι αμφίδρομη καθώς οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου στέλνουν νευράξονες στον προμετωπιαίο φλοιό αλλά και άλλες μεταχιακές περιοχές συμπεριλαμβανομένου του επικλινούς πυρήνα. Επιπροσθέτως, το ραβδωτό, συμπεριλαμβανομένου του επικλινούς πυρήνα, δέχεται γλουταμινεργική εννεύρωση από το φλοιό (Dudman et al., 2003). Η αλληλεπίδραση ντοπαμινεργικού και γλουταμινεργικού συστήματος είναι σημαντική για την εμφάνιση ποικίλων νευροψυχιατρικών διαταραχών (Gao & Wolf, 2008).

Η πυκνότητα του ραβδωτού σε γλουταμινεργικούς υποδοχείς είναι μεγάλη (Mao et al., 2011). Σχετική ενεργοποίηση των δύο αυτών μονοπατιών οδηγεί σε ετεροσυναπτική πλαστικότητα του φλοιοραβδωτού μονοπατιού. Επιπροσθέτως έχει αναφερθεί αλληλεπίδραση μεταξύ D_1 και NMDA υποδοχέων σε νευρώνες του ραβδωτού. Στην αλληλεπίδραση αυτή φαίνεται να είναι σημαντική η φωσφορυλίωση

της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στην PKA θέση φωσφορυλίωσης, την Ser⁸⁹⁷ (Dudman et al., 2003).



ΣΧΗΜΑ E33. Αλληλεπίδραση γλουταμινεργικού-ντοπαμινεργικού συστήματος. Τα γλουταμινεργικά κυτταρικά σώματα του προμετωπιαίου φλοιού στέλνουν νευράξονες και σχηματίζουν συνάψεις με τα ντοπαμινεργικά κυτταρικά σώματα του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου στο μεσεγκέφαλο. Ωστόσο, η επικοινωνία μεταξύ των δυο περιοχών είναι αμφίδρομη καθώς και τα ντοπαμινεργικά κύτταρα του μέσου εγκεφάλου στέλνουν προβολές στον προμετωπιαίο φλοιό αλλά και σε άλλες περιοχές, συμπεριλαμβανομένου του επικλινούς πυρήνα.

Όπως προαναφέραμε, η ντοπαμίνη είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της νευρωνικής διεγερσιμότητας και της εξαρτώμενης από το γλουταμινικό οξύ πλαστικότητας στον προμετωπιαίο φλοιό (Prefrontal Cortex, PFC). Αυτό μπορεί να σχετίζεται με την ικανότητα φαρμάκων που απελευθερώνουν ντοπαμίνη, όπως τα ψυχοδιεγερτικά, να επηρεάζουν τη συναπτική πλαστικότητα, συμπεριλαμβανομένης της διακίνησης των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό (Gao & Wolf, 2008· Gao & Wolf, 2007).

Διαταραχές στην αλληλεπίδραση γλουταμινεργικού και ντοπαμινεργικού συστήματος έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση ψυχικών διαταραχών. Σε νευροχημικό και μοριακό επίπεδο έχει υποστηριχθεί ότι η εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα, αμφίδρομη ρύθμιση της διαλογής των NMDA υποδοχέων παρέχει ένα δυναμικό και πιθανώς ισχυρό μηχανισμό για τη ρύθμιση της συναπτικής αποτελεσματικότητας και αναδιοργάνωσης που έχει απορυθμιστεί και μπορεί να

συμβάλει σε νευροψυχιατρικές διαταραχές όπως ο εθισμός, η νόσος Alzheimer και η σχιζοφρένια (Lau & Zukin, 2007).



ΣΧΗΜΑ E34. Διατάραξη του αμφίδρομου μονοπατιού νευρωνική δραστηριότητα-διακίνηση AMPA/NMDA υποδοχέων μπορεί να οδηγήσει σε νευροψυχιατρικές διαταραχές όπως ο εθισμός.

Γ. ΣΚΟΠΟΣ

Παρά το τεράστιο οικονομικό και κοινωνικό κόστος των συναισθηματικών διαταραχών, μέχρι και σήμερα, η κατανόηση της νευροβιολογίας και της παθοφυσιολογίας της Διπολικής Διαταραχής (ΔΔ) παραμένει ελλιπής. Γνωρίζουμε ότι για την εκδήλωση της διαταραχής συμβάλουν σημαντικά γενετικοί παράγοντες. Επιπλέον, σύμφωνα με τη σύγχρονη βιβλιογραφία η ΔΔ δεν μπορεί να ερμηνευθεί με την απλή δυσλειτουργία ενός νευροδιαβιβαστικού συστήματος αλλά περιλαμβάνει διαταραχές πολύπλοκων ενδοκυττάρων μονοπατιών διαβίβασης σήματος, πολλά από εκ των οποίων σχετίζονται με νευρωνική πλαστικότητα. Εκτός από την πολυπλοκότητα που χαρακτηρίζει τη ΔΔ, τροχοπέδη στην προσπάθεια κατανόησης του νευροβιολογικού υποστρώματός της αποτελεί και η έλλειψη ικανοποιητικών ζωικών μοντέλων για τη μελέτη του πλήρους φάσματος της διαταραχής καθώς και η συνακόλουθη έλλειψη κατανόησης του υποκείμενου θεραπευτικού μηχανισμού δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης.

Ελλείπει μοντέλων με τα οποία να εξετάζεται σε όλο το φάσμα της η ΔΔ, οι επιστήμονες αξιοποιούν ξεχωριστά ζωικά μοντέλα για τη μελέτη της καταθλιπτικής και της μανιακής φάσης της νόσου. Αν και υπάρχουν αρκετά ζωικά μοντέλα για τη μελέτη της καταθλιπτικής φάσης, φαίνεται ότι απουσιάζουν ικανοποιητικά μοντέλα για τη μελέτη της μανιακής φάσης της διαταραχής. Επιπροσθέτως, η σύγχρονη έρευνα προσανατολίζεται στην κατάτμηση της εκάστοτε φάσης σε πιο συγκεκριμένους συμπεριφορικούς φαινοτύπους που αντικατοπτρίζουν πιο εστιασμένο βιολογικό υπόστρωμα σε σχέση με την πλήρη νόσο, τους αποκαλούμενους ενδοφαινότυπους. Μάλιστα, η ετερογένεια του συμπεριφορικού φαινότυπου στη ΔΔ προάγει την κατεύθυνση αυτή, καθώς δεν φαίνεται να υπάρχει ένας τυπικός, περιεκτικός συμπεριφορικός φαινότυπος διπολικού ασθενή. Έτσι, μοντέλα που αξιοποιούν τη θεωρία των ενδοφαινοτύπων θα ήταν ιδιαίτερος χρήσιμα για την κατανόηση του βιολογικού υποστρώματος συγκεκριμένου υποπληθυσμού διπολικών ασθενών. Επιπλέον, η κατανόηση αυτή μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη πιο εκλεκτικών φαρμακοθεραπειών με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Η διαταραχή του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου φαίνεται ότι αποτελεί έναν από τους χαρακτηριστικούς για τη ΔΔ ενδοφαινότυπους. Τα ψυχοδιεγερτικά είναι γνωστό ότι προκαλούν μανιακά συμπτώματα σε υγιή άτομα ενώ επάγουν μανιακά επεισόδια σε ασθενείς με ΔΔ. Οι ψυχοτρόποι αυτές ουσίες ασκούν

τις δράσεις στο κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου. Κομβικό τμήμα αυτού του κυκλώματος είναι το μεσομεταιχμιακό-μεσοφλοιικό ντοπαμινεργικό σύστημα το οποίο συγκροτείται από νευρώνες που έχουν τα κυτταρικά τους σώματα στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο του μέσου εγκεφάλου και προβάλλουν στον επικλινή πυρήνα, τον προμετωπιαίο φλοιό και άλλες μεταιχμιακές περιοχές. Στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η ανάπτυξη και ο έλεγχος ενός μοντέλου για τη μελέτη της αυξημένης κινητοποίησης-ανταμοιβής που χαρακτηρίζει τους διπολικούς ασθενείς κατά την μανιακή φάση της νόσου. Στις μελέτες μας αξιοποιήσαμε το συμπεριφορικό πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε συνδυασμό με το φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας σε επίμυες που βασίζεται στη χορήγηση αμφεταμίνης. Στον επίμυ, η αμφεταμίνη μειώνει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και προκαλεί ενισχυτικές δράσεις.

Στην πρώτη φάση των πειραμάτων μας εξετάσαμε τις επιδράσεις της οξείας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης, LiCl, VPA συγχορήγηση LiCl και VPA και αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού καθώς και στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.

Στη δεύτερη φάση, μελετήσαμε τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης των σταθεροποιητικών της διάθεσης τόσο στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού όσο και στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.

Εν συνεχεία, με βάση τα αποτελέσματα των συμπεριφορικών μας μελετών, που διαφοροποιούν το LiCl από την αριπιπραζόλη, επιλέξαμε να επικεντρωθούμε στις επιδράσεις αυτών των δύο σταθεροποιητικών της διάθεσης στη νευρωνική πλαστικότητα που παρατηρείται σε μείζονες περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής όπως το κοιλιακό ραβδωτό και ο προμετωπιαίος φλοιός. Συγκεκριμένα, στοχεύσαμε στη μελέτη νευρωνικής πλαστικότητας σε τρία διαφορετικά επίπεδα.

Πρώτα μελετήσαμε πιθανές αλλαγές σε επίπεδο μεταγραφής γονιδίων έπειτα από την οξεία και τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό και στον προμετωπιαίο φλοιό. Για το σκοπό αυτό μελετήσαμε τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB η οποία υποδηλώνει και την ενεργοποίησή του.

Στη συνέχεια μελετήσαμε συνακόλουθες αλλαγές στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος έπειτα από την οξεία και χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό και στον προμετωπιαίο φλοιό. Πιο

συγκεκριμένα επικεντρωθήκαμε στη μελέτη πρωτεϊνικών κινασών που έχουν εμπλακεί στην παθολογία της ΔΔ όπως η PKA, PKC, CaMKII και η κίνηση της τυροσίνης μη-υποδοχέας Fyn. Η μελέτη της δραστηριότητας των κινασών αυτών έγινε μέσω ποσοτικής εκτίμησης της φωσφορυλίωσης των υποστρωμάτων τους.

Τέλος, μελετήσαμε τη συναπτική πλαστικότητα έπειτα από την οξεία και χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό και στον προμετωπιαίο φλοιό. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει τεράστιο ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των γλουταμινεργικών υποδοχέων και την υποκείμενη συναπτική πλαστικότητα. Για το λόγο αυτό, επικεντρωθήκαμε στην μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης σημαντικών για τη διακίνηση των AMPA/NMDA υπομονάδων. Πιο συγκεκριμένα, μελετήσαμε τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στις θέσεις Ser⁸³¹ (p-Ser⁸³¹-GluR1) και Ser⁸⁴⁵ (p-Ser⁸⁴⁵-GluR1). Επιπροσθέτως, μελετήσαμε τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στις θέσεις Ser⁸⁹⁶ (p-Ser⁸⁹⁶-NR1) και Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁷-NR1) καθώς και τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στις θέσεις Ser¹³⁰³ (p-Ser¹³⁰³-NR2B) και Tyr¹⁴⁷² (p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B).

Απώτερος στόχος της παρούσας διατριβής είναι η πρόταση ενός πιθανού μοντέλου νευρωνικής πλαστικότητας έπειτα από την οξεία ή χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης το οποίο να αντικατοπτρίζεται στον συμπεριφορικό φαινότυπο που μελετήσαμε. Τα δεδομένα μας στοχεύουν στην ταυτοποίηση θεραπευτικών στόχων δράσης φαρμάκων για την απώτερη ενδεχόμενη αναγωγή των δεδομένων στον υποπληθυσμό διπολικών ασθενών που χαρακτηρίζεται από διαταραχή του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου (ασθενείς με ευφορική μανία και ασθενείς με ΔΔ που κάνουν κατάχρηση ουσιών). Η ανάπτυξη πιο εκλεκτικών, και ενδεχομένως ειδικών για τον εκάστοτε ενδοφαινότυπο φαρμακευτικών αγωγών θα πρέπει να βρεθεί στο επίκεντρο μελλοντικών ερευνών.

Γ. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

1. Πειραματόζωα. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν άρρενες επίμυες Sprague-Dawley. Στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού χρησιμοποιήθηκαν επίμυες βάρους 300-370γρ. κατά την ημέρα της επέμβασης για την εμφύτευση ηλεκτροδίου. Οι επίμυες διέμεναν σε χώρο με σταθερή θερμοκρασία (20-23°C) και σταθερά εναλλασσόμενο φωτισμό (08.00-20.00 φως ενώ 20.00-08.00 σκοτάδι), ενώ είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό. Τα ζώα τοποθετούνταν σε κλωβούς ανά 3-4 πριν από την έναρξη των πειραμάτων, ενώ όσα συμπεριλήφθησαν στις μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, μετά τη χειρουργική επέμβαση τοποθετούνταν μεμονωμένα σε ατομικό κλωβό.

2. Πειραματικές μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού

2.1. Χειρουργικές επεμβάσεις - Στερεοταξική εμφύτευση ηλεκτροδίων. Οι χειρουργικές επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν υπό την επήρεια γενικής αναισθησίας που προκλήθηκε με την ενδομυϊκή χορήγηση ξυλαζίνης (10mg/kg) και υδροχλωρικής κεταμίνης (100mg/kg) και την προσθήκη θεικής ατροπίνης (0.6mg/kg). Η χορήγηση ατροπίνης στόχευε στην αποφυγή της βραδυκαρδίας και την ελάττωση των βρογχικών εκκρίσεων καθώς και της πιθανής καρδιακής ανακοπής που μπορεί να προκαλέσει η υδροχλωρική κεταμίνη.



ΣΧΗΜΑ M1. Στερεοταξική συσκευή (David Kopf Instruments).

Για την εμφύτευση των ηλεκτροδίων χρησιμοποιήθηκε στερεοταξική συσκευή (Βλ. ΣΧΗΜΑ M1, David Kopf Instruments). Στον κάθε επίμυ εμφυτεύτηκε

ηλεκτρόδιο στην περιοχή του έξω υποθαλάμου. Οι συντεταγμένες προσδιορίστηκαν από τον στερεοταξικό άτλαντα των Paxinos & Watson (1998) [προσθιοπίστια - 2.56mm με σημείο αναφοράς το βρέγμα, πλάγια -1.7mm από τη μέση γραμμή και - 8.6mm ραχιαίο-κοιλιακά, από την επιφάνεια του κρανίου].

Εμφυτεύθηκαν μονοπολικά ηλεκτρόδια που ήταν κατασκευασμένα από ανοξείδωτο χάλυβα, διαμέτρου 0.25mm. Τα ηλεκτρόδια ήταν μονωμένα με ειδικό βερνίκι σε όλο το μήκος τους εκτός από την κωνική αιχμή τους. Η άνοδος ήταν κατασκευασμένη από βελόνη σύριγγας μιας χρήσεως 21G. Για τη σταθεροποίηση του ηλεκτροδίου και της ανόδου στο κρανίο τοποθετούνταν 5 μικρές βίδες γύρω από τις οποίες περιελισσόταν και το σύρμα της ανόδου. Το σύστημα ηλεκτροδίου-ανόδου σταθεροποιείτο με την προσθήκη ακρυλικού πολυμερούς. Τέλος, στο χειρουργικό τραύμα γινόταν συρραφή με τη χρήση ενός μεταξωτού ράμματος.



ΣΧΗΜΑ M2. Ηλεκτρόδιο - Άνοδος. I. Μονοπολικό ηλεκτρόδιο κατασκευασμένο από χάλυβα. Το ηλεκτρόδιο είναι μονωμένο σε όλο το μήκος του, για την αποφυγή της ηλεκτρικής διέγερσης περιοχών που βρίσκονται ραχιαία του έξω υποθαλάμου. Μόνο η κωνική αιχμή του ηλεκτροδίου παραμένει χωρίς μόνωση με σκοπό την εκλεκτική διέγερση της περιοχής του έξω υποθαλάμου. II. Η άνοδος εξυπηρετεί στο «κλείσιμο» του ηλεκτρικού κυκλώματος.

Οι εκπαιδεύσεις για τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ξεκινούσαν μια εβδομάδα μετά την στερεοταξική επέμβαση. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σ' όλες τις φάσεις των πειραμάτων τηρούνταν οι κανόνες δεοντολογίας που περιγράφονται στον οδηγό για τη φροντίδα και τη χρήση πειραματοζώων του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (ΗΠΑ).

2.2. Χρόνος διεξαγωγής πειραμάτων. Όλα τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή θερμοκρασία και πάντα κατά τη διάρκεια της φάσης φωτός του 24-ώρου κύκλου φωτός-σκότους. Τα πειράματα του

ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ολοκληρώνονταν τουλάχιστον 1 ώρα πριν από το τέλος της φάσης φωτός. Στα πειράματα της μελέτης των επιδράσεων των χρόνιων χορηγήσεων, οι χορηγήσεις και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή -για το εκάστοτε ζώο- ώρα σε καθημερινή βάση.

2.3. Εξοικείωση πειραματόζωων (handling) - Διαδικασία χορηγήσεων. Πριν από την έναρξη των εκπαιδύσεων, τα ζώα εξοικειώνονταν αρχικά με τον πειραματιστή. Επιπλέον, λάμβαναν ενδοπεριτοναϊκές ενέσεις με φυσιολογικό ορό, ώστε να εξοικειωθούν με την διαδικασία της ενδοπεριτοναϊκής ένεσης.

2.4. Το πειραματικό πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Το πρότυπο αυτό βασίζεται στην ανακάλυψη των Milner & Olds (1954) ότι ο άμεσος ηλεκτρικός ερεθισμός του εγκεφάλου μπορεί να είναι ιδιαίτερα ενισχυτικός και ότι επίμυες που τους έχει εμφυτευθεί ηλεκτρόδιο σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου είναι σε θέση να μάθουν να πιέζουν ένα μοχλό σε ένα κλωβό συντελεστικής μάθησης (Skinner Box), για να αυτοερεθίζονται με ηλεκτρικό ρεύμα την εν λόγω περιοχή. Οι περιοχές αυτές αποκαλέστηκαν από τον Olds «κέντρα ηδονής» (Βλ. Παναγής, 1998; Παναγής, 2002). Πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι εξαρτησιογόνοι ουσίες επιδρούν στη συμπεριφορά αυτή επηρεάζοντας το υπόστρωμα του ενισχυτικού εγκεφαλικού ερεθισμού (Παναγής, 2002).

2.5. Πειραματική διάταξη και παράμετροι του ερεθισμού. Τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού πραγματοποιήθηκαν σε κλωβούς συντελεστικής μάθησης Skinner (Skinner Boxes). Οι κλωβοί αυτοί ήταν κατασκευασμένοι από Plexiglas (25 x 25 x 30cm), ενώ στο αριστερό μέρος του κάθε κλωβού ήταν τοποθετημένος ένας μεταλλικός μοχλός που βρισκόταν σε ύψος 4cm πάνω από τη βάση του κλωβού.

Το ηλεκτρόδιο συνδεόταν με ηλεκτρικό διεγέρτη. Η σύνδεση αυτή ήταν κατασκευασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτρέπει στο ζώο να κινείται ελεύθερα στον κλωβό. Κάθε πίεση του μοχλού ενεργοποιούσε το διεγέρτη με αποτέλεσμα το ζώο να δέχεται ηλεκτρικό ερέθισμα ως ανταμοιβή. Το ηλεκτρικό ερέθισμα που δεχόταν το πειραματόζωο ως ανταμοιβή ήταν μια σειρά παλμών με τα εξής χαρακτηριστικά: είχε διάρκεια 0.4sec και αποτελούνταν από τετραγωνικούς καθοδικούς παλμούς σταθερής διάρκειας (0.1msec) και έντασης (250μΑ) και

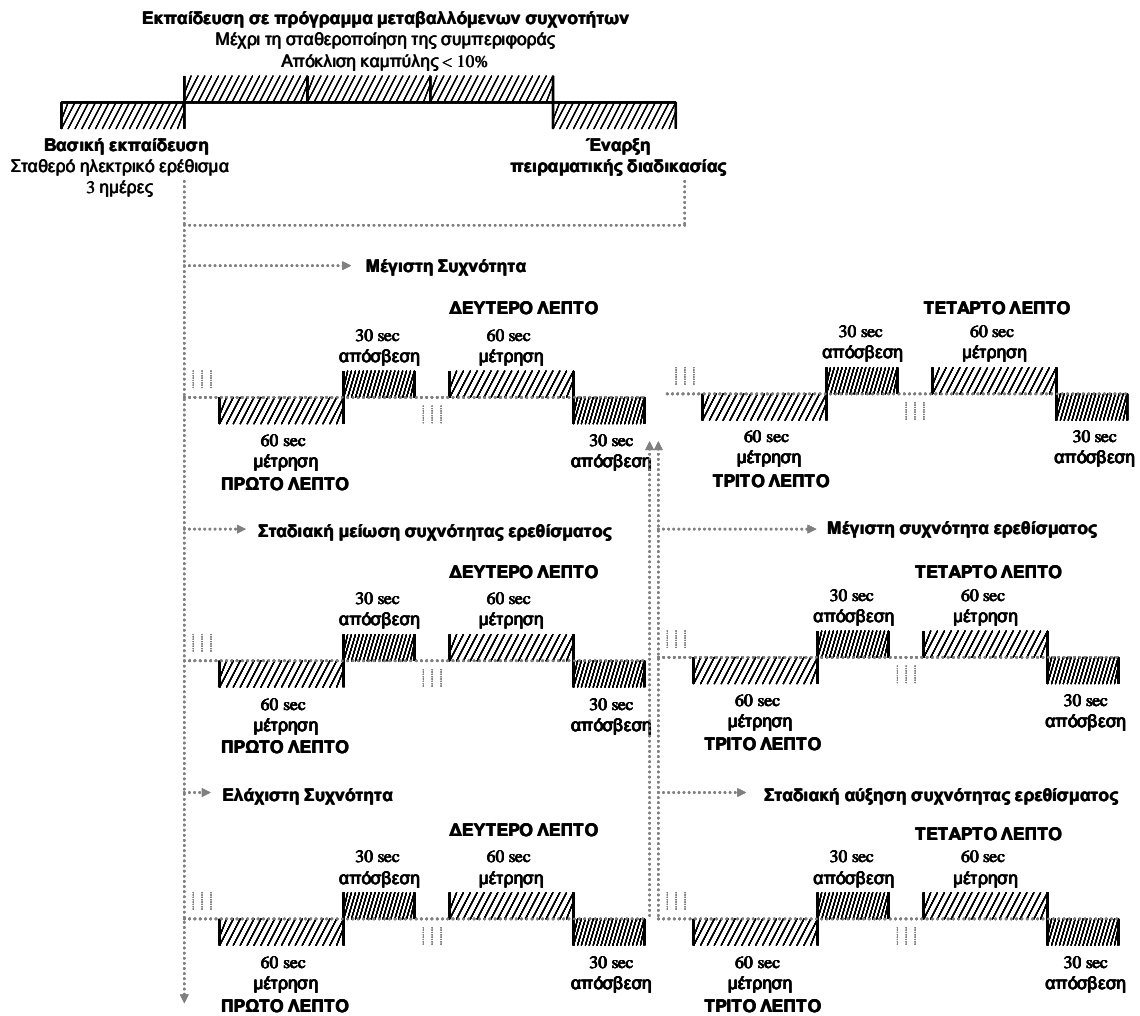
ποικίλης συχνότητας (15-125 Hz, δηλαδή 6-50 αριθμούς παλμών/0.4sec). Ο αριθμός των πύσεων του μοχλού καταγραφόταν από ηλεκτρονικό υπολογιστή.

2.6. Εκπαίδευση των πειραματόζωων στη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Πριν την έναρξη των πειραμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού προηγήθηκε εκπαίδευση των πειραματόζωων. Την πρώτη φορά που κάθε επίμυς τοποθετήθηκε στον κλωβό αφέθηκε να εξερευνήσει τον χώρο για λίγα λεπτά. Στη συνέχεια, έλαβε από τον πειραματιστή ηλεκτρικά ερεθίσματα συχνότητας 50 παλμών και έντασης 250 μ A. Από την αντίδρασή του πειραματόζωου γινόταν μια πρώτη εκτίμηση για το αν η εμφύτευση του ηλεκτροδίου ήταν επιτυχημένη.

Εν συνεχεία ο επίμυς δεχόταν ερέθισμα μόνο όταν πλησίαζε τον μοχλό έτσι ώστε να συνδέσει την πίεση του μοχλού με το ενισχυτικό ερέθισμα και να εκδηλώσει τη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (Βλ. ΣΧΗΜΑ M4). Όταν ο επίμυς εκδήλωνε συμπεριφορά αυτοερεθισμού, παρέμενε για μία ώρα στον κλωβό ώστε να αυτοερεθίζεται με το ανωτέρω ερέθισμα σταθερής έντασης και συχνότητας κάθε φορά που πίεζε το μοχλό. Αυτό επαναλαμβανόταν για δύο ακόμα ημέρες.

Στη συνέχεια, οι επίμυες εκπαιδεύονταν να αυτοερεθίζονται με την αυτοχορήγηση τεσσάρων εναλλασσόμενων σειρών μεταβαλλόμενων συχνοτήτων. Οι συχνοτήτες ξεκινούσαν από την υψηλότερη και αφού έφθαναν στη χαμηλότερη (2 μετρήσεις ανά συχνότητα) κατέληγαν προοδευτικά και πάλι στην υψηλότερη (άλλες 2 μετρήσεις ανά συχνότητα). Έτσι λαμβάνονταν συνολικά 4 μετρήσεις ανά συχνότητα.

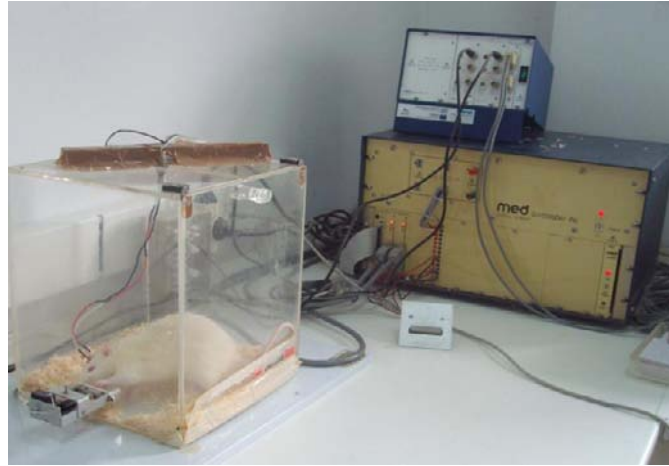
Κάθε μέτρηση είχε διάρκεια 60sec και ακολουθείτο από μια περίοδο απόσβεσης 30sec. Πριν από την έναρξη της εκπαίδευσης ή της πειραματικής διαδικασίας ο επίμυς αφηνόταν να πιέζει το μοχλό για 60sec στην υψηλότερη συχνότητα, ως υπενθύμιση της πειραματικής διαδικασίας. Η μέτρηση αυτή δεν καταγραφόταν και δεν λαμβανόταν υπόψη. Επιπροσθέτως, πριν από την έναρξη της κάθε δοκιμής ο επίμυς δεχόταν 3 σειρές παλμών ερεθισμού ως υπενθύμιση (priming), στην ίδια συχνότητα παλμών της δοκιμής που ακολουθούσε (Βλ. ΣΧΗΜΑ M3). Από το σύνολο των δοκιμών προέκυπτε η λεγόμενη καμπύλη συχνότητας ερεθισμού-αντιδράσεων πειραματόζωου (καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού).



ΣΧΗΜΑ Μ3. Σχηματική απεικόνιση του προγράμματος μεταβαλλόμενων συχνοτήτων στο οποίο βασίστηκε ο υπολογισμός του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και της ασυμπτώτου. Πριν από την έναρξη της κάθε δοκιμής ο επίμυς δεχόταν 3 σειρές παλμών ερεθισμού (\square) ως υπενθύμιση (priming), στην ίδια συχνότητα παλμών της δοκιμής που ακολουθούσε. Το πρόγραμμα που ακολουθήθηκε αποτελούταν από τέσσερις εναλλασσόμενες σειρές μεταβαλλόμενων συχνοτήτων. Οι συχνότητες ξεκινούσαν από την υψηλότερη και αφού έφθαναν στη χαμηλότερη (2 μετρήσεις ανά συχνότητα) κατέληγαν προοδευτικά και πάλι στην υψηλότερη (άλλες 2 μετρήσεις ανά συχνότητα). Μ' αυτόν τον τρόπο λαμβάνονταν συνολικά 4 μετρήσεις ανά συχνότητα. Από το σύνολο των δοκιμών προέκυπτε η καμπύλη συχνότητας ερεθισμού-αντιδράσεων πειραματόζωου (καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού).

Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνονταν καθημερινά έως ότου η καμπύλη της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού παρέμενε σταθερή και δεν παρουσίαζε

απόκλιση μεγαλύτερη του 10% για 3 ημέρες. Επομένως, η πειραματική διαδικασία ξεκινούσε αφού οι αντιδράσεις του επίμυ είχαν σταθεροποιηθεί.



ΣΧΗΜΑ Μ4. Πειραματική διάταξη ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ο επίμυς εκπαιδεύεται να πιέζει ένα μοχλό σε κλωβό συντελεστικής μάθησης και να δέχεται ένα ηλεκτρικό ερέθισμα στην περιοχή του έξω υποθαλάμου (από Εργαστήριο Νευροεπιστημών & Συμπεριφοράς Τμήματος Ψυχολογίας Παν/μίου Κρήτης).

2.7. Επεξεργασία και ανάλυση δεδομένων. Κάθε καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού αναλύθηκε με βάση την παραλλαγή του σιγμοειδούς μοντέλου του Compertz (Coulombe & Miliaressis, 1987):

$$f(X) = a e^{-e^{-b(x-x_0)}}$$

όπου το a αντιστοιχεί στο μέγιστο ποσοστό αντιδράσεων του πειραματόζωου (ασύμπτωτος) και το x_0 εκφράζει τη συχνότητα στην οποία αντιστοιχεί ο ουδός του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ο ουδός είναι ο αριθμός των παλμών που αντιστοιχεί στο 36,7% της τιμής της ασύμπτωτου, δηλαδή το σημείο το οποίο βρίσκεται στην περιοχή της καμπύλης με την μεγαλύτερη κλίση. Η παράμετρος b αντιπροσωπεύει έναν δείκτη της κλίσης της καμπύλης και το e αποτελεί τη βάση των νεπέριων λογαρίθμων.

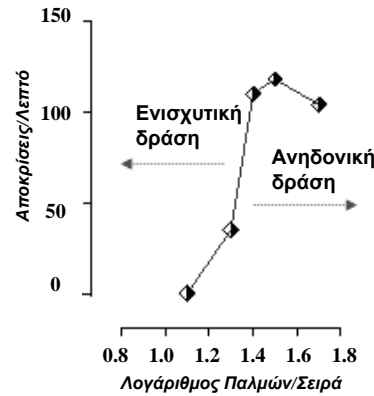
2.8. Η μέθοδος μετατόπισης της καμπύλης. Η εκτίμηση της ενισχυτικής ή ανηδονικής δράσης φαρμάκων ή άλλων χειρισμών με το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού μπορεί να γίνει με τη χρήση διαφόρων μεθόδων, οι οποίες παρέχουν ξεχωριστές πληροφορίες για την ενίσχυση και την κινητική δραστηριότητα/απόδοση του πειραματόζωου. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος μετατόπισης της καμπύλης, αφενός γιατί έχει αποδειχτεί έγκυρη και αξιόπιστη και αφετέρου διότι έχει κριθεί η πιο κατάλληλη σε μελέτες όπου ζητούμενο είναι να εκτιμηθούν οι πιθανές ενισχυτικές ή ανηδονικές δράσεις ψυχοτρόπων φαρμάκων.

Πρόκειται για μια ψυχοφυσική μέθοδο με την οποία καταγράφεται η συμπεριφορά του πειραματοζώου στις μεταβολές μιας παραμέτρου του ερεθίσματος όπως η συχνότητα ερεθίσματος, η ένταση ερεθίσματος, η διάρκεια παλμού, η διάρκεια παλμοσειράς κτλ. Με την μέθοδο αυτή προκύπτει μια σιγμοειδής καμπύλη που μοιάζει με τις κλασικές λογαριθμικές δοσοεξαρτώμενες φαρμακολογικές καμπύλες. Η διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι στη μια περίπτωση μελετάται η αποτελεσματική δόση ενός φαρμάκου και στην άλλη η «δόση» ή η αποτελεσματικότητα του ηλεκτρικού ερεθίσματος.

Στις μελέτες με το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού λαμβάνουμε δύο καμπύλες η μία από τις οποίες είναι αποτέλεσμα κάποιου πειραματικού χειρισμού (π.χ. η χορήγηση ενός φαρμάκου) ενώ η άλλη έχει ληφθεί σε συνθήκες ελέγχου. Συγκρίνοντας τις καμπύλες αυτές μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη δράση του συγκεκριμένου πειραματικού χειρισμού στη συμπεριφορά ανταμοιβής και στην κινητική δραστηριότητα του πειραματόζωου. Παρατηρείται αν ο πειραματικός χειρισμός μετατοπίζει την καμπύλη κάθετα ή οριζόντια και πόσο. Σημαντική μετατόπιση της καμπύλης προς τα δεξιά (δηλαδή προς τις υψηλότερες τιμές ερεθισμάτων) ή προς τα αριστερά (δηλαδή προς τις χαμηλότερες τιμές ερεθισμάτων), ερμηνεύεται ως αλλαγή στην αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού (Βλ. ΣΧΗΜΑ Μ5).

Αν λοιπόν μετά από ένα πειραματικό χειρισμό απαιτηθεί διπλάσιος αριθμός παλμών ερεθισμού από ότι συνήθως για να επιτευχθεί ένα συγκεκριμένο επίπεδο απόκρισης, τότε μπορούμε να πούμε ότι η αποτελεσματικότητα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έχει μειωθεί στο μισό. Μετατοπίσεις προς τα πάνω ή προς τα κάτω, δηλαδή προς υψηλότερα ή προς χαμηλότερα ποσοστά αντιδράσεων του πειραματόζωου ερμηνεύονται ως αλλαγές στην κινητική απόδοση του

πειραματόζωου. Από τα ανωτέρω καθίσταται σαφές ότι η συγκεκριμένη μέθοδος δίνει τη δυνατότητα ποσοτικής εκτίμησης πειραματικών χειρισμών που επηρεάζουν την ανταμοιβή. Γι' αυτό και θεωρείται αξιόπιστη και έγκυρη για τη μελέτη της πιθανής ενισχυτικής ή ανηδονικής δράσης ψυχοτρόπων ουσιών.



ΣΧΗΜΑ Μ5. Μέθοδος μετατόπισης της καμπύλης. Στον οριζόντιο άξονα απεικονίζονται οι συχνότητες εκφρασμένες ως λογάριθμος παλμών/σειρά ενώ στον κάθετο άξονα απεικονίζεται ο αριθμός των αποκρίσεων του πειραματόζωου εκφρασμένος ως πύσεις μοχλού/λεπτό. Αρχικά λαμβάνεται μια βασική μέτρηση από την οποία προκύπτει μια σιγμοειδής καμπύλη συχνότητας/αποκρίσεων. Στη συνέχεια χορηγείται το υπό μελέτη φάρμακο και λαμβάνεται μία δεύτερη σειρά μετρήσεων από την οποία προκύπτει μια δεύτερη σιγμοειδής καμπύλη συχνότητας/αποκρίσεων. Μετατόπιση της δεύτερης καμπύλης προς τα αριστερά υποδηλώνει ενισχυτική δράση του φαρμάκου, ενώ προς τα αριστερά ανηδονική δράση.

2.9. Ολοκλήρωση πειραματικής διαδικασίας και ιστολογική επαλήθευση των σημείων εμφύτευσης των ηλεκτροδίων. Μετά το πέρας των πειραμάτων, οι επίμυες θυσιάζονταν με ενδοπεριτοναϊκή ένεση νατριούχου θειοπεντάλης (Pentothal[®], Abbot) (100mg/kg). Ακολουθούσε βραδεία ενδοκαρδιακή έγχυση 50ml φυσιολογικού ορού και στη συνέχεια 50ml διαλύματος 10% φορμόλης. Μετά τη διαδικασία της ενδοκαρδιακής έγχυσης και αφού ο εγκέφαλος είχε τοποθετηθεί σε διάλυμα 10% φορμόλης για τουλάχιστον 24 ώρες, κοβόταν σε μετωπιαίες τομές πάχους 40μm με τη χρήση ψυκτικού μικροτόμου [Leica, CM1850], ώστε να επαληθευτεί η θέση εμφύτευσης του ηλεκτροδίου. Οι τομές τοποθετούνταν πάνω σε αντικειμενοφόρες πλάκες, οι οποίες μετά από χρώση με ιώδες του κρεσυλίου εξετάζονταν σε οπτικό μικροσκόπιο. Μόνο οι επίμυες στους οποίους η αιχμή του ηλεκτροδίου εντοπιζόταν

στον έξω υποθάλαμο συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.



ΣΧΗΜΑ Μ6. Ιστολογική επαλήθευση σημείου εμφύτευσης ηλεκτροδίου.

3. Μοριακές μελέτες ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος

3.1. Ανοσοαποτύπωση κατά Western. Μετά τη θανάτωση των επίμυων και την εξαγωγή του εγκεφάλου τους και πριν καταψυχθούν οι ιστοί στους -80°C έγινε εκτομή του προμετωπιαίου φλοιού και του κοιλιακού ραβδωτού. Κατά την προετοιμασία των δειγμάτων, τα πρωτεϊνικά δείγματα αναμίχθηκαν με πήκτωμα επιστοιβάξης 1% SDS (450μl για το εκάστοτε δείγμα του ραβδωτού και 550μl για το εκάστοτε δείγμα του προμετωπιαίου φλοιού) και ακολούθησε λύση των κυττάρων με υπερήχους. Στη συνέχεια τα δείγματα θερμάνθηκαν για 10 λεπτά σε 95°C και τοποθετήθηκαν σε πάγο. Η ποσότητα των πρωτεϊνών των δειγμάτων μετρήθηκε με την μέθοδο BCA (Bicinchoninic Acid) χρησιμοποιώντας Bovine Serum Albumin (BSA) ως σταθερά.

Ίσες ποσότητες δειγμάτων (40μg) φορτώθηκαν σε 9% αποδιατακτικά πηκτώματα πολυακρυλαμίδης. Οι πρωτεΐνες διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμίδιου παρουσία SDS (SDS/PAGE) και το αποτύπωμα τους μεταφέρθηκε σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης (0.2mm). Για τις p-Ser¹³⁰³-NR2B (1:200), p-Ser⁸³¹-GluR1, συνολική NR1, p-Ser⁸⁹⁶-NR1, p-Ser⁸⁹⁷-NR1, συνολική NR2B, p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B, συνολική CREB, p-Ser¹³³-CREB (1:500), GluR1, p-Ser⁸⁴⁵-GluR1(1:1000) και a-actin (1:4000) χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά αντισώματα. Ως δεύτερο αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε το goat anti-rabbit ή anti-mouse συνδεδεμένο με

υπεροξειδάση του ράπανου IgG (1:6000). Οι μεμβράνες εμβαπτίστηκαν με κατάλληλα διαλύματα ενίσχυσης χημειοφωταύγειας ανοσοαποτυπώματος σε ειδικό σύστημα (GE Healthcare) και ακολούθησε εμφάνιση της αυτοραδιογραφίας σε σκοτεινό θάλαμο. Οι πρωτεϊνικές ζώνες που έδιναν ανοσοαντίδραση αποτυπώνονταν σε φωτογραφικό φιλμ ως ζώνες αμαύρωσης (για το ακριβές πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε Βλ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ). Τα πρώτα αντισώματα προέρχονταν από τις εταιρείες Upstate Biotechnology, Cell signaling, Millipore, Pharmaceutical Mingen, United Biomedical Inc. (UBI) και Sigma (Βλ. ΠΙΝΑΚΑ Μ1).

ΠΙΝΑΚΑΣ Μ1.

	ΠΡΩΤΕΪΝΗ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ	ΔΙΑΛΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ
1	Συνολική GluR1 (T-GluR1)	Millipore	1:1000
2	p-Ser ⁸³¹ -GluR1	Millipore	1:500
3	p-Ser ⁸⁴⁵ -GluR1	Upstate	1:1000
4	Συνολική NR1 (T-NR1)	Pharmaceutical Mingen	1:500
5	p-Ser ⁸⁹⁶ -NR1	Upstate	1:500
6	p-Ser ⁸⁹⁷ -NR1	Cell signaling	1:500
7	Συνολική NR2B (T-NR2B)	Millipore	1:500
8	p-Ser ¹³⁰³ -NR2B	UBI	1:200
9	p-Tyr ¹⁴⁷² -NR2B	Calbiochem	1:500
10	α-actin	Sigma	1:4000
11	Συνολική CREB (T-CREB)	Upstate	1:500
12	p-Ser ¹³³ -CREB	Upstate	1:500

3.2. Μέτρηση και ανάλυση μοριακών δεδομένων. Η πυκνομετρική ανάλυση των αυτοραδιογραφιών των πειραμάτων των ανοσοαποτυπωμάτων κατά Western

πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος ανάλυσης εικόνων Scion Image. Για τον υπολογισμό των πραγματικών τιμών, σε κάθε μέτρηση αφαιρέθηκε η τιμή του «φόντου» (Background).

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως ποσοστά % της αντίστοιχης ομάδας ελέγχου (ομάδα εκδόχου), όπου ο μέσος όρος της ομάδας αυτής ορίστηκε ως 100% και οι λοιπές τιμές εκφράστηκαν ως % μεταβολή στην τιμή αυτή.

Για τη μέτρηση του ποσοστού των φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε η πρωτογενής πυκνομετρική τιμή της συνολικής πρωτεΐνης. Η πρωτογενής πυκνομετρική τιμή της εκάστοτε φωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης εκφράστηκε ως αναλογία της συνολικής πρωτεΐνης. Στη συνέχεια, οι αναλογίες αυτές εκφράστηκαν ως ποσοστά % της αντίστοιχης ομάδας ελέγχου.

4. Στατιστική ανάλυση. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 18.0. Τα αποτελέσματα αρχικά αναλύθηκαν με απλή ή διπλή ανάλυση διακύμανσης (Analysis of Variance, ANOVA) με ή χωρίς επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ανάλογα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Στις περιπτώσεις της διπλής ANOVA, όταν η αλληλεπίδραση βρέθηκε σημαντική, για την εκτίμηση των απλών επιδράσεων λήφθηκε υπόψη η θεωρία ανισοτήτων του Bonferroni σύμφωνα με την οποία η προσαρμοσμένη τιμή του p προκύπτει από τον παρακάτω τύπο:

$$p = \frac{\text{Το άθροισμα των } p \text{ για τις κύριες επιδράσεις συν τις αλληλεπιδράσεις}}{\text{Αριθμό των απλών επιδράσεων}}$$

Τα στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα αναλύθηκαν στη συνέχεια με τη χρήση του κριτηρίου για πολλαπλές συγκρίσεις Bonferroni το οποίο λαμβάνει υπόψη του τον αριθμό των συγκρίσεων. Στις μελέτες ανοσοαποτύπωσης κατά Western, λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων ελαχίστων διαφορών (Least Significant Difference, LSD).

5. Πειραματικός Σχεδιασμός

5.1. Μελέτη πρώτη: Μελέτη των επιδράσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση.

5.1.1. Μελέτη των επιδράσεων του χλωριούχου λιθίου (LiCl) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικές δόσεις LiCl (0, 12.5, 25, 50, 100, 200mg/kg, i.p.) ή το έκδοχό του. Μετά τη χορήγηση LiCl λαμβάνονταν δύο καμπύλες ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η πρώτη ξεκινούσε 20 λεπτά μετά τη χορήγηση ενώ η δεύτερη 120 λεπτά μετά τη χορήγηση. Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων του LiCl, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.1.2. Μελέτη των επιδράσεων του βαλπροϊκού οξέος (VPA) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικές δόσεις VPA (0, 100, 200, 400mg/kg, i.p.) ή το έκδοχό του. Μετά τη χορήγηση VPA λαμβάνονταν δύο καμπύλες ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η πρώτη ξεκινούσε 10 λεπτά μετά τη χορήγηση ενώ η δεύτερη 120 λεπτά μετά τη χορήγηση. Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων του VPA, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.1.3. Μελέτη των επιδράσεων της συγχορήγησης χλωριούχου λιθίου (LiCl) και βαλπροϊκού οξέος (VPA) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από οξεία συστηματική χορήγηση. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικοί συνδιασμοί LiCl και VPA (25 & 100, 25 & 200, 50 & 200, 50 & 100 mg/kg, i.p.) ή τα έκδοχά τους. Οι δόσεις LiCl και VPA που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από μόνες τους μη-δραστικές σε οξεία χορήγηση. Μετά τη χορήγηση LiCl και VPA λαμβάνονταν δύο καμπύλες

ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η πρώτη ξεκινούσε 15 λεπτά μετά τη χορήγηση ενώ η δεύτερη 120 λεπτά μετά τη χορήγηση. Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων του συνδυασμού LiCl και VPA, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.1.4. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας συστηματικής χορήγησης αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικές δόσεις αριπιπραζόλης (0, 0.075, 0.75, 1.5, 2.5mg/kg, i.p.) ή το έκδοχό της. Μετά τη χορήγηση αριπιπραζόλης λαμβάνονταν δύο καμπύλες ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η πρώτη ξεκινούσε 15 λεπτά μετά τη χορήγηση ενώ η δεύτερη 120 λεπτά μετά τη χορήγηση. Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων της αριπιπραζόλης, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.2. Μελέτη δεύτερη: Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού

5.2.1. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης LiCl στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους προ-χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικές δόσεις LiCl (0, 50, 100 mg/kg, i.p.). Είκοσι λεπτά μετά τη χορήγηση LiCl στα ζώα χορηγήθηκε αμφεταμίνη (0, 0.5, 1mg/kg, i.p.). Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων των φαρμάκων, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.2.2. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης VPA στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους προ-χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικές δόσεις VPA (0, 200, 400 mg/kg, i.p.). Δέκα λεπτά μετά τη χορήγηση VPA στα ζώα

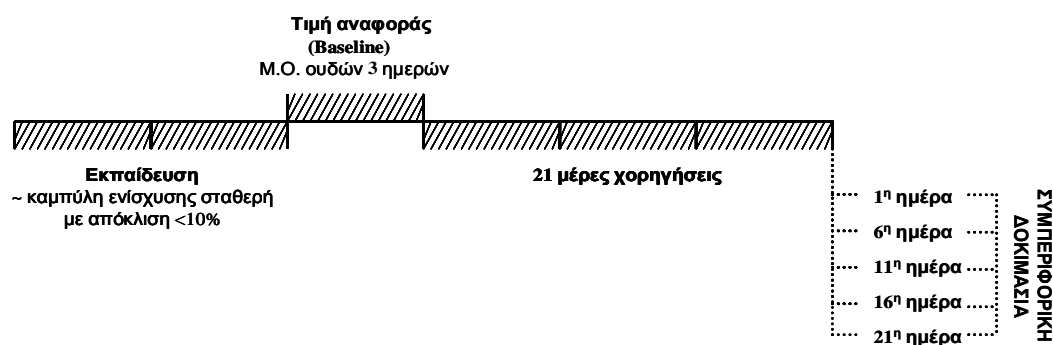
χορηγήθηκε αμφεταμίνη (0, 0.5, 1mg/kg, i.p.). Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων των φαρμάκων, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.2.3. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας συνδυασμένης προ-χορήγησης LiCl και VPA στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους προ-χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά διαφορετικοί συνδυασμοί LiCl και VPA (0, 50&200, 50&100 mg/kg, i.p.). Δεκαπέντε λεπτά μετά τη χορήγηση LiCl και VPA στα ζώα χορηγήθηκε αμφεταμίνη (0, 0.5, 1mg/kg, i.p.). Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων των φαρμάκων, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.2.4. Μελέτη των επιδράσεων της οξείας προ-χορήγησης αριπιπραζόλης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οκτώ άρρενες επίμυες, στους οποίους προ-χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά αριπιπραζόλη (0, 0.075, 0.75 και 1.5 mg/kg, i.p.). Δεκαπέντε λεπτά μετά τη χορήγηση αριπιπραζόλης στα ζώα χορηγήθηκε αμφεταμίνη (0, 0.5, 1mg/kg, i.p.). Υπήρξε αντιστάθμιση στη σειρά χορήγησης των διαφορετικών δόσεων των φαρμάκων, ενώ μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 3 ημερών μεταξύ των χορηγήσεων.

5.3. Μελέτη τρίτη: Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν πέντε ομάδες επίμυων ($n = 7-8/ομάδα$) για τη χορήγηση του εκάστοτε φαρμάκου. Αρχικά, υπολογίσαμε την τιμή αναφοράς (Baseline) για τον ουδό και την ασύμπτωτο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ως το μέσο όρο των τιμών του ουδού και της ασύμπτωτου των πρώτων 3 ημερών μετά από την σταθεροποίηση της καμπύλης. Στη συνέχεια στους επίμυες χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά LiCl (100 mg/kg), VPA (200 mg/kg καθημερινά και 400mg/kg μόνο τις μέρες των συμπεριφορικών δοκιμασιών), συνδυασμός LiCl (50 mg/kg) & VPA (200mg/kg), αριπιπραζόλη (0.75 mg/kg) ή έκδοχο για 21 μέρες, καθημερινά την ίδια ώρα της ημέρας. Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του

εγκεφαλικού ερεθισμού πραγματοποιήθηκε την πρώτη, την έκτη, την ενδέκατη, τη δέκατη έκτη και την εικοστή πρώτη ημέρα (Βλ. ΣΧΗΜΑ Μ7). Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην ομάδα χορήγησης VPA, η επιλογή του παραπάνω πειραματικού σχεδιασμού αναφορικά με τις δόσεις έγινε για να αποφευχθούν οι τοξικές δράσεις του φαρμάκου από την χορήγηση μεγαλύτερων δόσεων για 21 ημέρες.

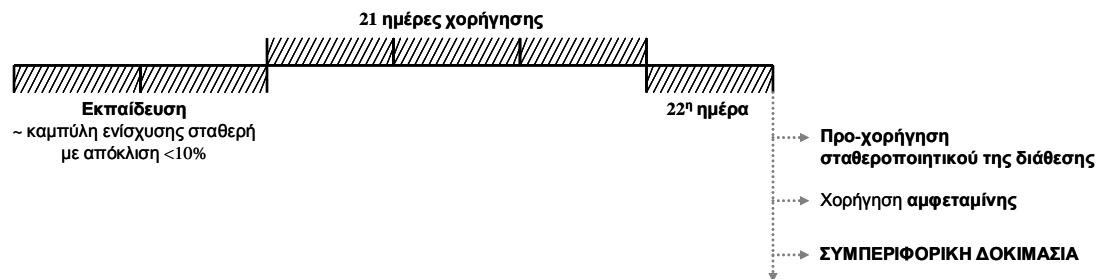


ΣΧΗΜΑ Μ7. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διαδικασίας για τη μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Μετά την εκπαίδευση και τη σταθεροποίηση της καμπύλης ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού, υπολογίστηκε η τιμή αναφοράς για τον ουδό και την ασύμπτωτο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ως ο μέσος όρος των τιμών του ουδού και της ασύμπτωτου των τριών πρώτων ημερών. Στη συνέχεια, ακολούθησε χορήγηση ενός εκ των σταθεροποιητικών της διάθεσης ή εκδόχου για είκοσι μία ημέρες, ενώ η συμπεριφορική δοκιμασία έλαβε χώρα την πρώτη, την έκτη, την ενδέκατη, τη δέκατη έκτη και την εικοστή πρώτη ημέρα.

5.3.1. Μέτρηση επιπέδων LiCl και VPA στο πλάσμα έπειτα από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών. Για να επιβεβαιώσουμε ότι τα επίπεδα LiCl και VPA έπειτα από τη χρόνια χορήγηση 21 ημερών βρίσκονταν εντός των θεραπευτικών ορίων στο πλάσμα θυσίασαμε τα πειραματόζωα με αποκεφαλισμό 1 ή 12 ώρες μετά την τελευταία χορήγηση και συλλέξαμε αίμα με σκοπό τον προσδιορισμό των επιπέδων. Τα επίπεδα LiCl στο πλάσμα μετρήθηκαν με ιοντο-επιλεκτικά ηλεκτρόδια ενώ τα επίπεδα του VPA με την ανοσομέθοδο φθορισμού πόλωσης (fluorescence polarization immunoassay).

5.4. Μελέτη τέταρτη: Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Στη μελέτη

αυτή χρησιμοποιήθηκαν πέντε ομάδες επίμυων ($n = 7-8/ομάδα$) για τη χορήγηση του εκάστοτε φαρμάκου και του εκδόχου. Στους επίμυες χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά LiCl (100 mg/kg), VPA (200 mg/kg καθημερινά και 400mg/kg μόνο τις αντίστοιχες μέρες πραγματοποίησης των συμπεριφορικών δοκιμασιών της τρίτης μελέτης), LiCl (50 mg/kg) και VPA (200mg/kg), αριπιπραζόλη (0.75 mg/kg) ή έκδοχο για 21 μέρες, καθημερινά την ίδια ώρα της ημέρας. Την 22^η μέρα, στην ομάδα χρόνιας χορήγησης LiCl, προ-χορηγήθηκε LiCl και 20λεπτά μετά τη χορήγηση του, χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά, αμφεταμίνη (0.5mg/kg). Στην ομάδα χρόνιας χορήγησης VPA, προ-χορηγήθηκε VPA (400mg/kg) και 10λεπτά μετά τη χορήγηση του χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά αμφεταμίνη. Στην ομάδα συγ-χορήγησης LiCl και VPA, προ-χορηγήθηκε LiCl (50 mg/kg) και VPA (200mg/kg) και 15λεπτά μετά τη χορήγηση τους, χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά αμφεταμίνη. Στην ομάδα χρόνιας χορήγησης αριπιπραζόλης, προ-χορηγήθηκε αριπιπραζόλη και 15λεπτά μετά τη χορήγηση της χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά αμφεταμίνη. Στην ομάδα ελέγχου ακολουθήθηκε η ίδια πειραματική διαδικασία με τη μόνη διαφορά ότι στους επίμυες έγινε για 21 ημέρες χορήγηση εκδόχου και την 22^η μέρα προ-χορήγηση εκδόχου και 20λεπτά μετά χορήγηση αμφεταμίνης. Η μεταβολή του ουδού και της ασύμπτωτου ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού κατά την 22^η ημέρα υπολογίστηκε ως % μεταβολή πριν από τη χορήγηση σταθεροποιητικού της διάθεσης και αμφεταμίνης.



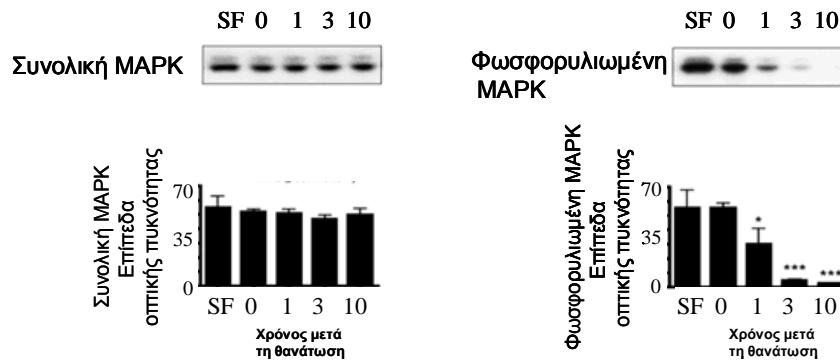
ΣΧΗΜΑ Μ8. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διαδικασίας για τη μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Μετά την εκπαίδευση και τη σταθεροποίηση της καμπύλης ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού, σε διαφορετικές ομάδες επίμυων χορηγήθηκε ένα εκ των σταθεροποιητικών της διάθεσης ή έκδοχο για 21 ημέρες και την 22^η ημέρα προ-χορηγήθηκε το σταθεροποιητικό της διάθεσης και στη συνέχεια ακολούθησε χορήγηση αμφεταμίνης.

5.5. Μελέτη πέμπτη: Μελέτη νευρωνικής πλαστικότητας στον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Στα πείραματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν έξι ομάδες πειραματοζώων αποτελούμενες από 5-6 άρρενες επίμυες η καθεμιά. Οι ομάδες διαχωρίζονταν σε αυτές των οξειών και αυτές των χρόνιων χορηγήσεων. Αναφορικά με τις οξείες χορηγήσεις, η πρώτη ομάδα επίμυων έλαβε ενδοπεριτοναϊκά LiCl (100 mg/kg) και τα ζώα θυσιάστηκαν 25 λεπτά μετά τη χορήγηση. Η δεύτερη ομάδα επίμυων έλαβε ενδοπεριτοναϊκά αριπιπραζόλη (1.5 mg/kg) και τα ζώα θυσιάστηκαν 20 λεπτά μετά τη χορήγηση. Η αντίστοιχη ομάδα ελέγχου (τρίτη ομάδα) έλαβε έκδοχο (φυσιολογικός ορός) και τα ζώα θυσιάστηκαν 20 λεπτά μετά τη χορήγηση. Αναφορικά με τις χρόνιες χορηγήσεις, μια ομάδα επίμυων (τέταρτη ομάδα) έλαβε ενδοπεριτοναϊκά για 22 ημέρες LiCl (100 mg/kg) και τα ζώα θυσιάστηκαν 25 λεπτά μετά τη χορήγηση. Μια άλλη ομάδα επίμυων (πέμπτη ομάδα) έλαβε ενδοπεριτοναϊκά αριπιπραζόλη (0.75 mg/kg) για 22 ημέρες και τα ζώα θυσιάστηκαν 20 λεπτά μετά τη χορήγηση. Η αντίστοιχη ομάδα ελέγχου (έκτη ομάδα) έλαβε έκδοχο (φυσιολογικός ορός) για 22 ημέρες και τα ζώα θυσιάστηκαν 20 λεπτά μετά τη χορήγηση. Τα ζώα των ομάδων των οξειών χορηγήσεων θυσιάστηκαν με τη χρήση ειδικής συσκευής εστιασμένης ακτινοβολίας μικροκυμάτων (Focused Microwave Irradiation). Καθώς οι ιστοί μετά θάνατον υπόκεινται σε αποδόμηση πρωτεϊνών, ο χρόνος που απαιτείται από τη θυσία έως την ψύξη είναι ιδιαίτερος σημαντικός εάν θέλουμε να μετρήσουμε τις πρωτεΐνες αναλλοίωτες από την *in vivo* κατάστασή τους. Αν και οι (συνολικές) πρωτεΐνες δε φαίνεται να επηρεάζονται τόσο σημαντικά από το χρόνο μετά τη θυσία, τα επίπεδα των φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών φαίνεται ότι είναι σημαντικά μειωμένα ήδη από το πρώτο λεπτό μετά την θυσία (Βλ. ΣΧΗΜΑ M9). Η εστιασμένη ακτινοβολία μικροκυμάτων συμβάλλει στην ταχεία απενεργοποίηση των πρωτεασών (1.4s) και για το λόγο αυτό, η μέθοδος αυτή έχει υποδειχθεί ως η πλέον αποτελεσματική για τη διατήρηση των φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών συγκριτικά με τον αποκεφαλισμό ή τον αποκεφαλισμό και ταχύ πάγωμα (snap-freeze, SF) σε υγρό N₂ (Sköld et al., 2007).

Στις ομάδες των χρόνιων χορηγήσεων ακολουθήθηκε η μέθοδος του αποκεφαλισμού και ταχέως παγώματος σε ισοπεντάνιο. Ο πειραματικός αυτός σχεδιασμός ακολουθήθηκε λόγω της φυσιολογικής ανάπτυξης των πειραματοζώων κατά τη διάρκεια των 22 ημερών που είχε ως αποτέλεσμα το τελικό τους βάρος να μην επιτρέπει να θυσιαστούν με τη συσκευή περιορισμού που χρησιμοποιείται για

την ασφαλή χρήση της ειδικής συσκευής εστιασμένης ακτινοβολίας μικροκυμάτων. Σε κάθε περίπτωση, τα αποτελέσματα των ομάδων των οξείων και χρόνιων χορηγήσεων εκφράστηκαν ως επί τοις εκατό της αντίστοιχης ομάδας ελέγχου με σκοπό την εξάλειψη οποιουδήποτε σφάλματος αναφορικά με διαφορές στη διατήρηση της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών.

Μετά τη θυσία και πριν καταψυχθούν οι ιστοί στους -80°C έγινε εκτομή του προμετωπιαίου φλοιού καθώς και του κοιλιακού ραβδωτού.



ΣΧΗΜΑ M9. Η επίδραση του χρόνου μετά τη θυσία στη φωσφορυλίωση της MAPK έπειτα από ταχύ πάγωμα ή εστιασμένη ακτινοβολία μικροκυμάτων. Η MAPK είναι διπλά φωσφορυλιωμένη (p-Thr¹⁸³/Tyr¹⁸⁵-42MAPK/p-Thr²⁰²/Tyr²⁰⁴-44MAPK) και αποσφωρυλιώνεται ταχέως με την πάροδο του χρόνου μετά θάνατον. SF, ταχύ πάγωμα με άμεσο fixation με τη χρήση ενός νέου εργαλείου αδρανοποίησης δειγμάτων (Denator) * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ (Μεταφρασμένο από Sköld et al., 2007).

5.5.1. Μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Τα δείγματα από τις οξείες χορηγήσεις φορτώθηκαν σε διαφορετικά αποδιατακτικά πηκτώματα από τα δείγματα των χρόνιων χορηγήσεων. Για τη μελέτη της συνολικής πρωτεΐνης CREB και της φωσφορυλιωμένης κατάστασής της τα δείγματα φορτώθηκαν σε δύο διαφορετικά («αντίτυπα») 9% αποδιατακτικά πηκτώματα πολυακρυλαμίδης (ένα για τη μελέτη της συνολικής πρωτεΐνης και ένα για τη μελέτη της φωσφορυλιωμένης μορφής της) και ακολουθήθηκε η διαδικασία όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η ίδια μεθοδολογία ακολουθήθηκε και για την μελέτη των υπόλοιπων πρωτεϊνών. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική CREB (Upstate) και την p-Ser¹³³-CREB (Upstate) που ήταν διαλυμένα 1:500, σε 5% γάλα σε TBST.

5.5.2. Μελέτη της παρουσίας της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR1-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας της PKC μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKC, τη Ser⁸⁹⁶. (ii) Μελέτη της δραστηριότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser⁸⁹⁷. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική NR1 (Pharmaceutical Mingen), την p-Ser⁸⁹⁶-NR1(Upstate) και την p-Ser⁸⁹⁷-NR1 (Cell signaling) που ήταν διαλυμένα 1:500.

5.5.3. Μελέτη της παρουσίας της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR2B-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας της CaMKII και της PKC μελετώντας τη θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την CaMKII και PKC, τη Ser¹³⁰³. (ii) Μελέτη της δραστηριότητας της Fyn μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την Fyn, την Tyr¹⁴⁷². Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική NR2B (Millipore), την p-Ser¹³⁰³-NR2B (UBI) και την p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B (Calbiochem) που ήταν διαλυμένα 1:200 για το αντίσωμα της p-Ser¹³⁰³-NR2B και 1:500 για τα αντισώματα της συνολικής NR2B και της p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B.

5.5.4. Μελέτη της παρουσίας της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη σύναψη και της GluR1-εξαρτώμενης διαβίβαση σήματος μέσω AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας των CaMKII και PKC κινασών, μελετώντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹. (ii) Μελέτη της δραστηριότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser⁸⁴⁵-Υποδοχείς που εκφράζονται στη σύναψη. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική GluR1 (Millipore), την p-Ser⁸³¹-GluR1(Millipore) και την p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 (Upstate) που ήταν διαλυμένα 1:500 για το αντίσωμα της p-Ser⁸³¹-GluR1 και 1:1000 για το αντίσωμα της συνολικής GluR1 και της p-Ser⁸⁴⁵-GluR1.

5.6.1. Μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική CREB (Upstate) και την p-Ser¹³³-CREB (Upstate) που ήταν διαλυμένα 1:500.

5.6.2. Μελέτη της παρουσίας της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR1-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας της PKC μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKC, τη Ser⁸⁹⁶. (ii) Μελέτη της δραστηριότητας της PKA μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKA, τη Ser⁸⁹⁷. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική NR1 (Pharmaceutical Mingen), την p-Ser⁸⁹⁶-NR1(Upstate) και την p-Ser⁸⁹⁷-NR1 (Cell signaling) που ήταν διαλυμένα 1:500.

5.6.3. Μελέτη της παρουσίας της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη σύναψη και της NR2B-εξαρτώμενης διαβίβασης σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας της CaMKII και της PKC μελετώντας τη θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την CaMKII και την PKC, τη Ser¹³⁰³. (ii) Μελέτη της δραστηριότητας της Fyn μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας από την Fyn, την Tyr¹⁴⁷². Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική NR2B (Millipore), την p-Ser¹³⁰³-NR2B (UBI) και την p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B (Calbiochem) που ήταν διαλυμένα 1:200 για το αντίσωμα της p-Ser¹³⁰³-NR2B και 1:500 για τα αντισώματα της συνολικής NR2B και της p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B.

5.6.4. Μελέτη της παρουσίας της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη σύναψη και της GluR1-εξαρτώμενης διαβίβαση σήματος μέσω AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από οξεία και χρόνια συστηματική χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. (i) Μελέτη της δραστηριότητας των CaMKII και PKC κινασών, μελετώντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹. (ii) 5.6.2.2. Μελέτη της δραστηριότητας της PKA μελετώντας την

εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της **GluR1** υπομονάδας από την **PKA**, τη **Ser⁸⁴⁵-Υποδοχείς που εκφράζονται στη σύναψη**. Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά πρώτα αντισώματα για τα συνολική GluR1 (Millipore), την p-Ser⁸³¹-GluR1(Millipore) και την p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 (Upstate) που ήταν διαλυμένα 1:500 για το αντίσωμα της p-Ser⁸³¹-GluR1 και 1:1000 για το αντίσωμα της συνολικής GluR1 και της p-Ser⁸⁴⁵-GluR1.

ΠΙΝΑΚΑΣ Μ2.

ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ	ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ-ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ	ΘΕΣΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΥΠΟΜΟΝΑΔΑΣ	ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΘΕΣΗΣ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ
AMPA	GluR1 (~106kDa)	Ser ⁸³¹	Εκλεκτική θέση της CaMK II και PKC
AMPA	GluR1 (~106kDa)	Ser ⁸⁴⁵	Εκλεκτική θέση της PKA
NMDA	NR1 (~120kDa)	Ser ⁸⁹⁶	Εκλεκτική θέση της PKC
NMDA	NR1 (~120kDa)	Ser ⁸⁹⁷	Εκλεκτική θέση της PKA
NMDA	NR2B (~180kDa)	Ser ¹³⁰³	Εκλεκτική θέση της CaMK II και PKC
NMDA	NR2B (~180kDa)	Tyr ¹⁴⁷²	Εκλεκτική θέση για την Fyn

E. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Πειραματικές μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού

1.1. Μελέτη πρώτη: Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση.

1.1.1. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης LiCl στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση. Αναφορικά με τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, η διπλή ανάλυση διακύμανσης (two-way Analysis of Variance-ANOVA) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε σημαντική επίδραση του φαρμάκου [$F(5,35)=20.320$, $p<0.001$], αλλά όχι σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=0.881$, $p>0.05$], ούτε σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(5,35)=0.973$, $p>0.05$]. Επιπροσθέτως, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni ανέδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στις δόσεις των 100 mg/kg και 200 mg/kg ($p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ A1A). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση του φαρμάκου [$F(5,35)=24.452$, $p<0.001$] αλλά όχι σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=1.113$, $p>0.05$] ούτε σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(5,35)=0.349$, $p>0.05$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση μόνο στις δόσεις των 100 mg/kg και 200 mg/kg ($p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ A1B).

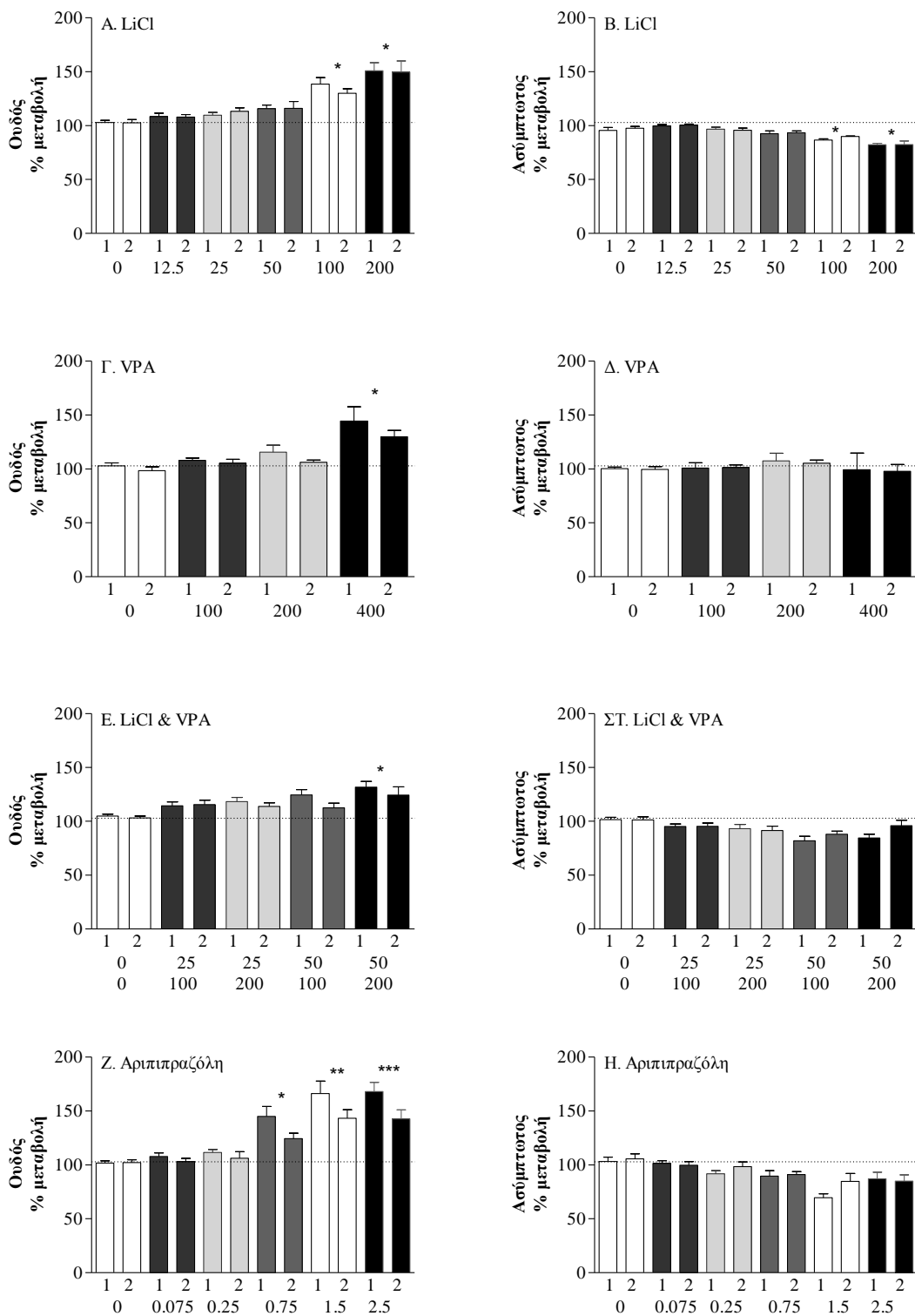
1.1.2. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης VPA στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση. Αναφορικά με τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση του φαρμάκου [$F(3,21)=14.046$, $p<0.001$], αλλά όχι σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=3.004$, $p>0.05$] ούτε σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(5,21)=0.809$, $p>0.05$]. Επιπλέον, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού μόνο στη μεγαλύτερη δόση (400 mg/kg, για $p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ A1Γ). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική

αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(3,21)=0.015$, $p>0.05$] αλλά ούτε σημαντική κύρια επίδραση του φαρμάκου [$F(3,21)=0.369$, $p>0.05$] ή του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=0.019$, $p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α1Δ).

1.1.3. Επιδράσεις της οξείας συγχορήγησης LiCl και VPA στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση. Αναφορικά με τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση της συγχορήγησης των φαρμάκων [$F(4,28)=7.273$, $p<0.001$], αλλά όχι σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=11.912$, $p>0.05$] ούτε και σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκων και χρόνου [$F(4,28)=1.698$, $p>0.05$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μόνο η συγχορήγηση των 50 mg/kg LiCl και 200 mg/kg VPA αύξησαν σημαντικά τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α1Ε). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση των φαρμάκων [$F(4,28)=11.912$, $p>0.05$], ούτε σημαντική επίδραση του χρόνου [$F(1,28)=2.720$, $p>0.05$] ή αλληλεπίδραση φαρμάκων και χρόνου [$F(4,28)=2.706$, $p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α1ΣΤ).

1.1.4. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από οξεία χορήγηση. Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση του φαρμάκου [$F(5,35)=22.294$, $p<0.001$] στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού καθώς και στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=17.594$, $p<0.01$], αλλά όχι στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(5,35)=2.061$, $p>0.05$]. Σύμφωνα με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni, η αριπιπραζόλη, δοσο-εξαρτώμενα, αύξησε σημαντικά τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στις δόσεις 0.75 ($p<0.05$), 1.5 ($p<0.01$) και 2.5mg/kg ($p<0.001$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α1Ζ). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(5,35)=2.188$, $p>0.05$]. Ωστόσο βρέθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου μετά τη χορήγηση [$F(1,7)=11.977$, $p<0.05$] καθώς και στατιστικά σημαντική επίδραση του φαρμάκου [$F(5,35)=5.501$, $p<0.01$]. Παρ' όλα αυτά, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι

δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις ούτε των μεγάλων δόσεων αριπιπραζόλης ως προς την ασύμπτωτο ($p > 0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α1Η).



ΣΧΗΜΑ Α1. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης LiCl (Α και Β), VPA (Γ και Δ), της συγχορήγησης LiCl & VPA (Ε και ΣΤ) και της αριπιπραζόλης (Ζ και Η) στον ουδό (αριστερή στήλη) και στην ασύμπτωτο (δεξιά στήλη) ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Στον

άξονα χ η ένδειξη 1 υποδηλώνει την πρώτη καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού που λαμβανόταν μετά τη χορήγηση του φαρμάκου (10-20 λεπτά μετά τη χορήγηση), ενώ η ένδειξη 2 υποδηλώνει την δεύτερη καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού (120λεπτά μετά τη χορήγηση). Στη δεύτερη και τρίτη σειρά του άξονα χ οι ενδείξεις αφορούν τις δόσεις των φαρμάκων που χορηγήθηκαν εκφρασμένες ως mg/kg. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

1.2. Μελέτη δεύτερη: Επιδράσεις της οξείας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.

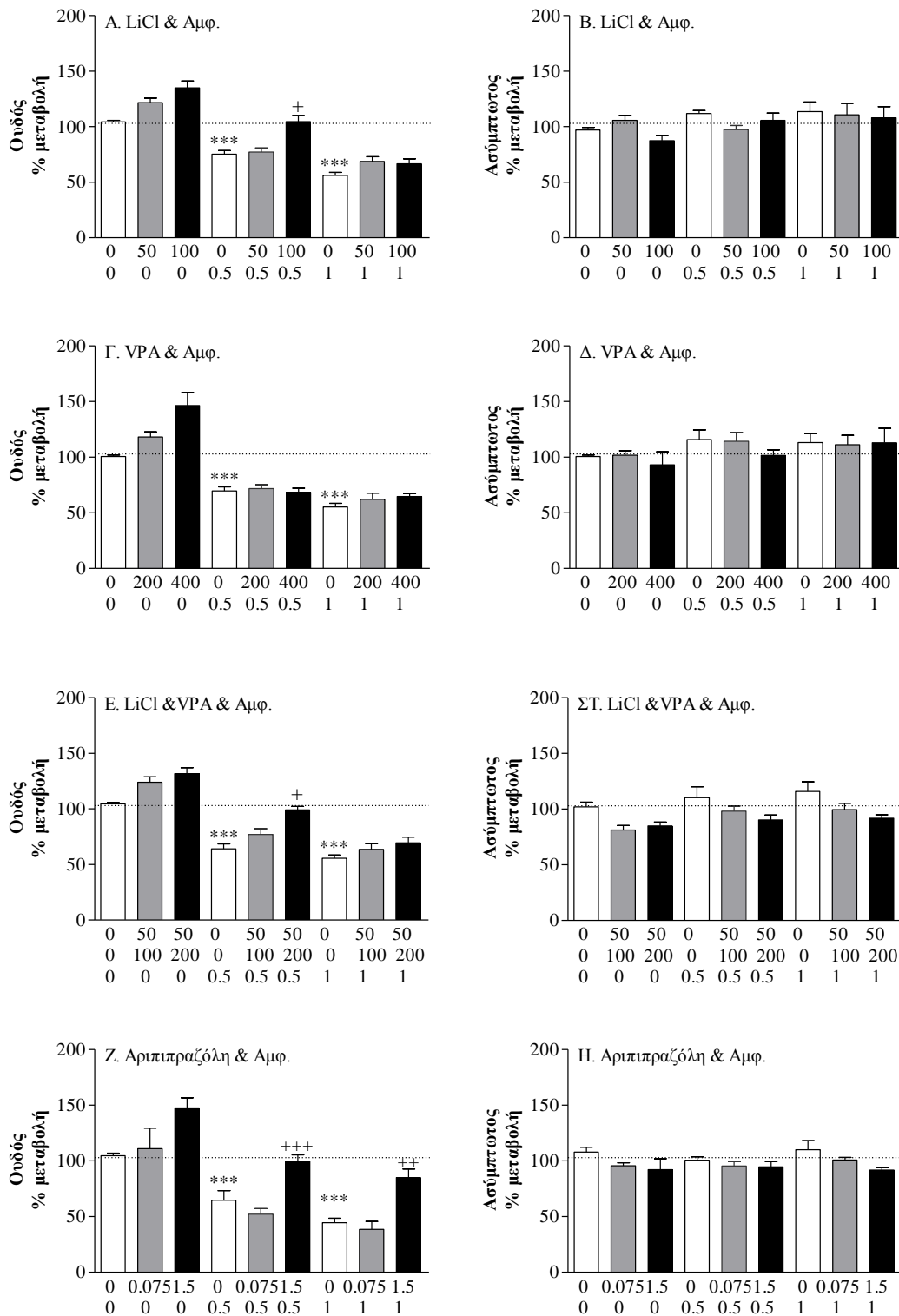
1.2.1. Επιδράσεις της οξείας προ-χορήγησης LiCl στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση LiCl και αμφεταμίνης [$F(4,28)=3.255$, $p < 0.05$] στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Αναφορικά με τις απλές επιδράσεις, απλή ANOVA για τη δόση 0 (έκδοχο) του LiCl έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση της αμφεταμίνης [$F(2,14)=93.228$, $p < 0.001$]. Επιπροσθέτως, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η αμφεταμίνη (0.5 και 1 mg/kg, i.p.) προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p < 0.001$). Η απλή ANOVA για την απλή επίδραση του 0.5 mg/kg αμφεταμίνης έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση του LiCl [$F(2,14)=20.098$, $p < 0.001$], ενώ το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η οξεία χορήγηση LiCl (100 mg/kg, i.p.) ανέστειλε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης (0.5 mg/kg, i.p.) στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ($p < 0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Α). Αντίθετα, η χαμηλότερη δόση LiCl (50 mg/kg, i.p.) δεν ανέστειλε αυτή τη δράση της αμφεταμίνης ($p > 0.05$). Η απλή ANOVA για την απλή επίδραση του 1 mg/kg αμφεταμίνης έδειξε ότι το LiCl δεν είχε καμία επίδραση [$F(2,14)=4.420$, $p > 0.025$] στις ενισχυτικές ιδιότητες της αμφεταμίνης (1 mg/kg, i.p.). Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση LiCl και αμφεταμίνης [$F(4,27)=3.860$, $p < 0.05$] στην ασύμπτωτο. Αντίθετα, η απλή ANOVA στη δόση 0 (έκδοχο) του LiCl έδειξε ότι η αμφεταμίνη δεν είχε καμία επίδραση στην ασύμπτωτο [$F(2,14)=2.591$, $p > 0.025$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Β).

1.2.2. Επιδράσεις της οξείας προ-χορήγησης VPA στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η απλή ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση VPA και αμφεταμίνης [$F(4,28)=7.276$, $p<0.001$] στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Σχετικά με τις απλές επιδράσεις, η απλή ANOVA στη δόση 0 (έκδοχο) του VPA έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση στις δράσεις της αμφεταμίνης [$F(2,14)=91.039$, $p<0.001$]. Επιπλέον, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η αμφεταμίνη (0.5 και 1 mg/kg, i.p.) προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p<0.001$). Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, για τη μελέτη της απλής επίδρασης της δόσης του 0.5 mg/kg αμφεταμίνης, έδειξε ότι το VPA δεν είχε καμία επίδραση στην επαγόμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού [$F(2,14)=0.228$, $p>0.025$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Γ). Επιπροσθέτως, η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την μελέτη της απλής επίδρασης της δόσης του 1 mg/kg αμφεταμίνης έδειξε ότι το VPA δεν είχε καμία επίδραση [$F(2,14)=4.420$, $p>0.025$] στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού που προκλήθηκε από τη μεγάλη δόση αμφεταμίνης (1mg/kg, ip). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση του VPA [$F(2,28)=1.567$, $p>0.05$], ούτε της αμφεταμίνης [$F(2,14)=3.369$, $p>0.05$] ούτε αλληλεπίδραση VPA και αμφεταμίνης [$F(4,28)=0.555$, $p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Δ).

1.2.3. Επιδράσεις της οξείας συγχορήγησης LiCl και VPA στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση της συγχορήγησης LiCl & VPA με την αμφεταμίνη [$F(4,28)=3.221$, $p<0.05$] στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στη δόση 0 & 0 LiCl & VPA έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση της αμφεταμίνης [$F(2,14)=78.397$, $p<0.001$]. Επιπροσθέτως, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η αμφεταμίνη (0.5 και 1 mg/kg, i.p.) προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p<0.001$). Η απλή ANOVA για τη μελέτη της απλής επίδρασης του 0.5 mg/kg αμφεταμίνης έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση

της συγχορήγησης LiCl & VPA [$F(2,14)=19.866, p<0.001$] στην από την αμφεταμίνη προκαλούμενη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η οξεία συγχορήγηση LiCl (50 mg/kg, i.p.) και VPA (200mg/kg,i.p.) ανέστειλε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης (0.5 mg/kg, i.p.) στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ($p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Ε). Στον αντίποδα, η συγχορήγηση LiCl (50 mg/kg) και μικρότερης δόσης VPA (100 mg/g) δεν ανέστειλαν αυτή τη δράση ($p>0.05$). Η απλή ANOVA για την μελέτη της απλής επίδρασης της δόσης του 1 mg/kg αμφεταμίνης έδειξε ότι η συγχορήγηση LiCl & VPA δεν είχε καμία επίδραση [$F(2,14)=4.420, p>0.025$] στην ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης (1 mg/kg, i.p.). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση της συγχορήγησης LiCl & VPA και αμφεταμίνης [$F(4,28)=0.645, p>0.05$], αλλά ούτε και κύρια επίδραση της συγχορήγησης LiCl&VPA [$F(2,28)=10.289, p>0.05$], ή της χορήγησης αμφεταμίνης [$F(2,28)=3.714, p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2ΣΤ).

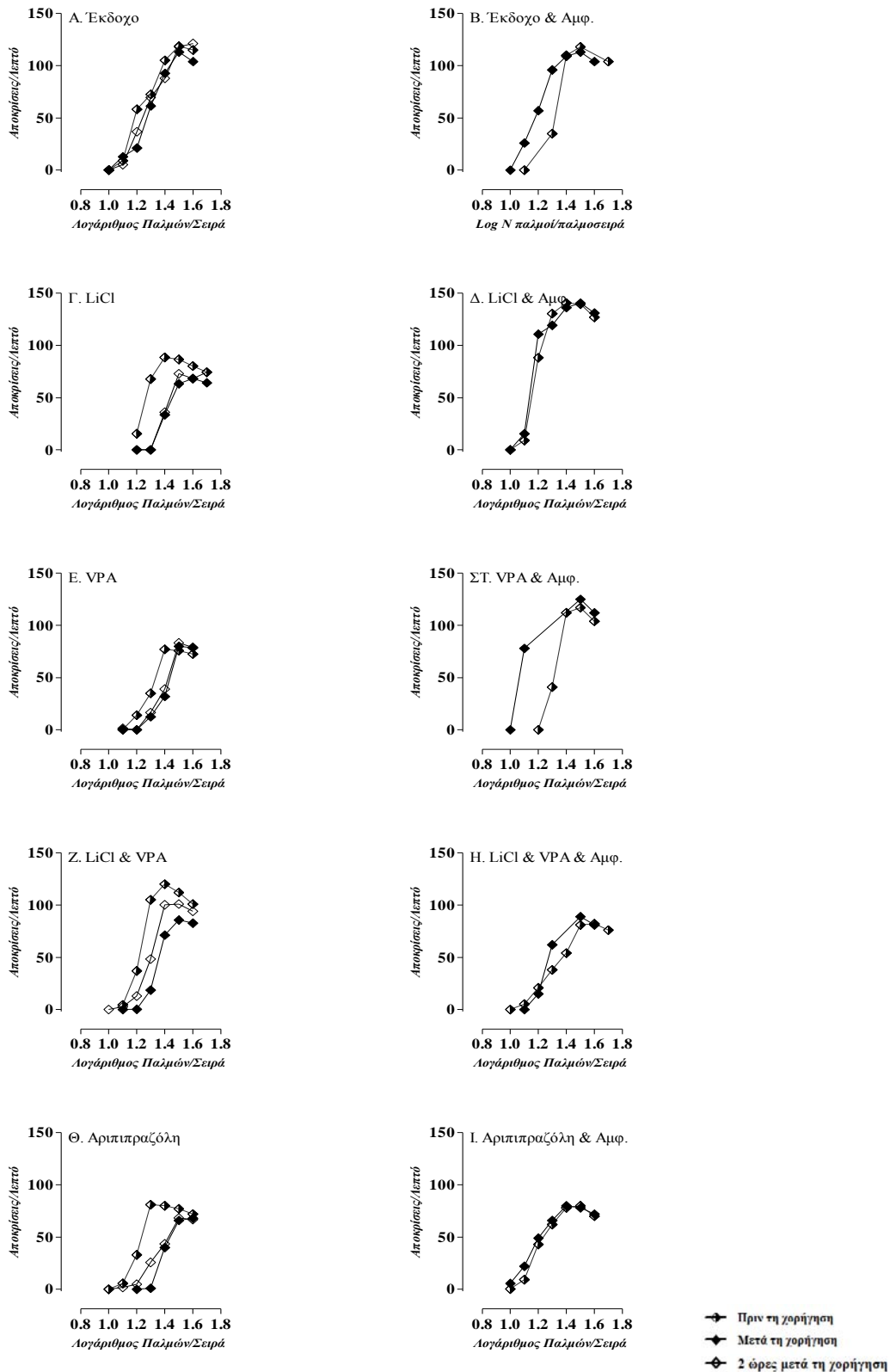
1.2.4. Επιδράσεις της οξείας χορήγησης αριπιπραζόλης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση αριπιπραζόλης και αμφεταμίνης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού [$F(4,28)=6.744, p<0.05$]. Η αμφεταμίνη επηρέασε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού [$F(2,14)=26.118, p<0.001$], ενώ το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η αμφεταμίνη (0.5 και 1 mg/kg, i.p.) προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p<0.001$). Η απλή ANOVA στην δόση του 0.5mg/kg αμφεταμίνης έδειξε ότι η αριπιπραζόλη επηρέασε σημαντικά την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης [$F(2,14)=17.989, p<0.001$], ενώ το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η οξεία χορήγηση αριπραζόλης (1.5mg/kg, i.p.) ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού ($p<0.001$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Ζ). Η απλή ANOVA στην δόση του 1mg/kg αμφεταμίνης έδειξε ότι η αριπιπραζόλη επηρέασε σημαντικά και τη δράση του 1mg/kg αμφεταμίνης [$F(2,14)=20.956, p<0.001$], ενώ το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μόνο η οξεία χορήγηση της μεγάλης δόσης αριπραζόλης (1.5mg/kg, i.p.) ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη



ΣΧΗΜΑ Α2. Επιδράσεις της οξείας προ-χορήγησης LiCl (Α και Β), VPA (Γ και Δ), LiCl & VPA (Ε και ΣΤ) και αριπιπραζόλης (Ζ και Η) στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Αριστερή στήλη: ουδός ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, δεξιά στήλη:

ασύμπτωτος. Στον άξονα χ η πρώτη σειρά αναφέρεται στη δόση του εκάστοτε σταθεροποιητικού της διάθεσης που χορηγήθηκε ενώ η δεύτερη αναφέρεται στη δόση αμφεταμίνης. Στα σχήματα Ε. και ΣΤ. (συγχορήγηση LiCl & VPA) η πρώτη γραμμή αναφέρεται στις δόσεις LiCl, η δεύτερη στις δόσεις VPA ενώ η τρίτη γραμμή αναφέρεται στις δόσεις αμφεταμίνης. Όλες οι δόσεις των φαρμάκων εκφράζονται ως mg/kg. *** $p < 0.001$, σε σχέση με την ομάδα εκδόχου & εκδόχου. + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$, σε σχέση με την ομάδα χορήγησης έκδοχο & αμφεταμίνη και με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού ($p < 0.01$). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση αριπιπραζόλης και αμφεταμίνης [$F(4,28)=0.171$, $p > 0.05$]. Επιπλέον, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση της αριπιπραζόλης [$F(2,14)=1.250$, $p > 0.05$] ή της αμφεταμίνης στην ασύμπτωτο [$F(2,14)=0.587$, $p > 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α2Η).

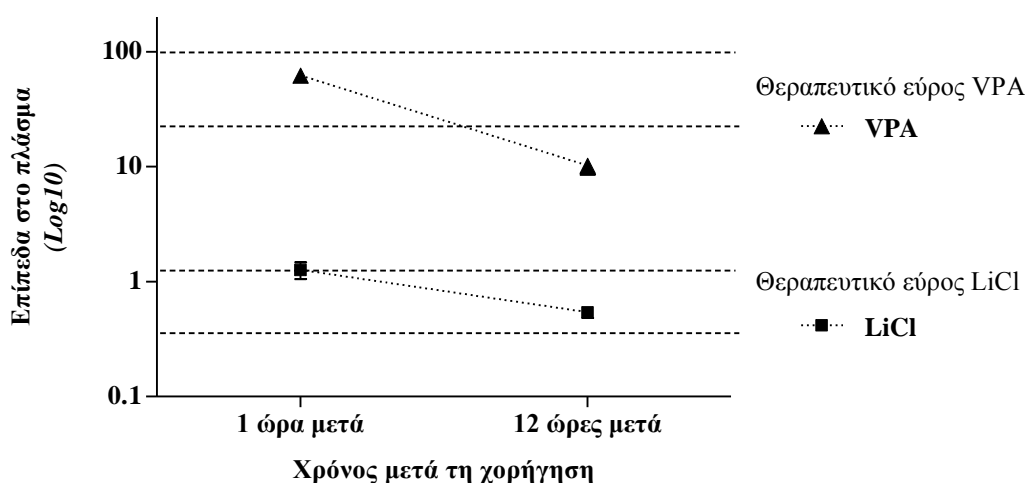


ΣΧΗΜΑ Α3. Καμπύλες ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού (λογάριθμος παλμών/σειρά - αποκρίσεις/λεπτό) από αντιπροσωπευτικά πειραματόζωα. Κάθε επιμέρους σχήμα απεικονίζει τις καμπύλες ενός πειραματόζωου πριν, μετά και 2 ώρες μετά τη συστηματική χορήγηση εκδόχου (Α), εκδόχου & 0.5mg/kg αμφεταμίνης (Β), 100mg/kg LiCl (Γ),

100mg/kg LiCl & 0.5mg/kg αμφεταμίνης (Δ), 400mg/kg VPA (Ε), 400mg/kg VPA & 0.5mg/kg αμφεταμίνης (ΣΤ), 50mg/kg LiCl & 200mg/kg VPA (Ζ), 50mg/kg LiCl & 200mg/kg VPA & 0.5mg/kg αμφεταμίνης (Η), 1.5mg/kg αριπιπραζόλης (Θ), και 1.5mg/kg αριπιπραζόλης & 0.5mg/kg αμφεταμίνης (Ι).

1.3. Μελέτη τρίτη: Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από χρόνια χορήγηση.

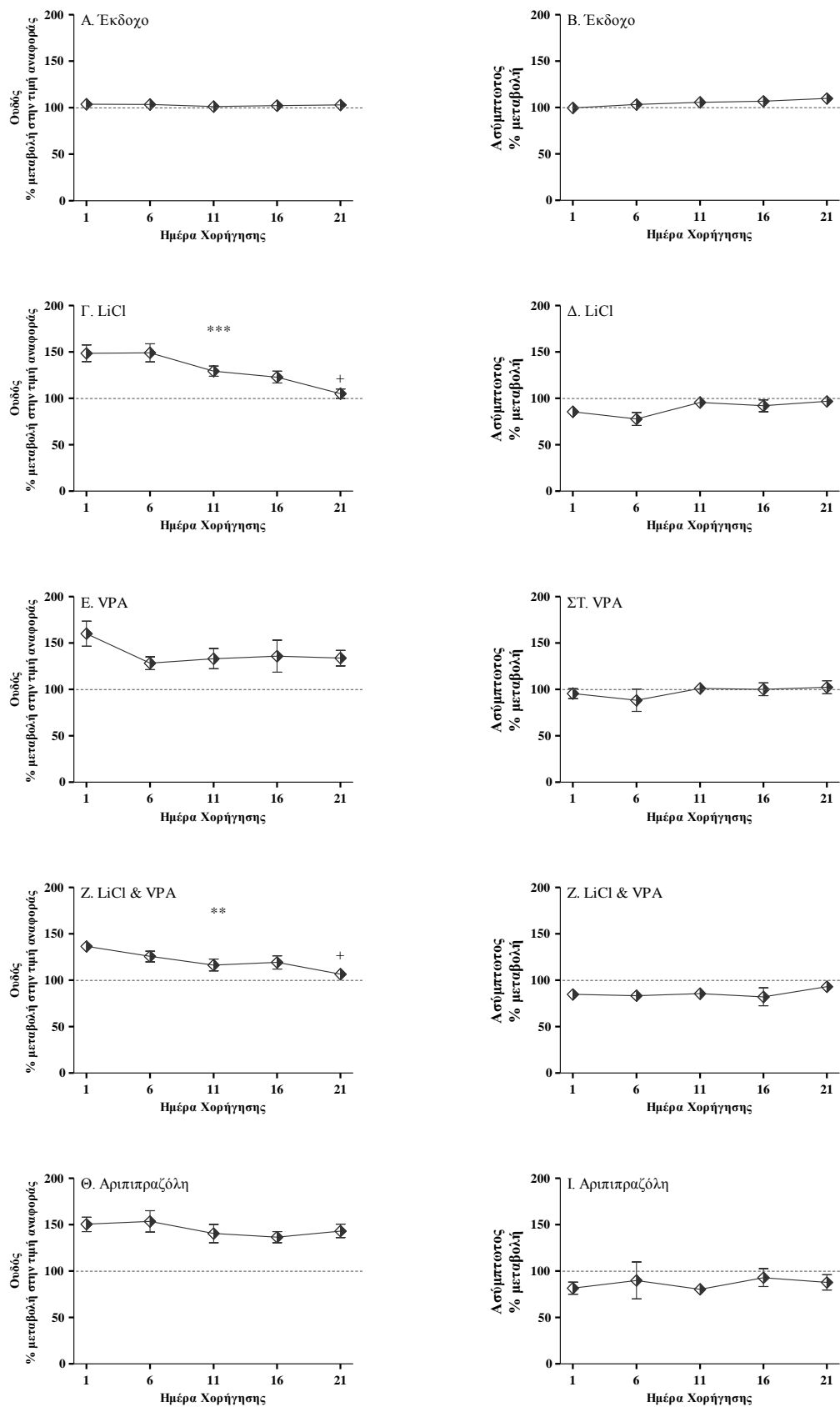
1.3.1. Επίπεδα LiCl και VPA στο πλάσμα μετά από χρόνια χορήγηση. Τα επίπεδα LiCl και VPA στο πλάσμα βρέθηκαν εντός των θεραπευτικών σε χρόνους αντίστοιχους με αυτούς της πραγματοποίησης των συμπεριφορικών πειραμάτων. Πιο συγκεκριμένα τα επίπεδα LiCl ήταν 1.28mM με τυπικό σφάλμα 0.24 μια ώρα μετά την τελευταία χορήγηση και 0.54mM με τυπικό σφάλμα 0.057 δώδεκα ώρες μετά την τελευταία χορήγηση. Τα επίπεδα του VPA στο πλάσμα ήταν 62.32μg/ml με τυπικό σφάλμα 2.547 μια ώρα μετά την τελευταία χορήγηση και 10.20μg/ml με τυπικό σφάλμα 1.65 δώδεκα ώρες μετά την τελευταία χορήγηση (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α4).



ΣΧΗΜΑ Α4. Επίπεδα LiCl και VPA στο πλάσμα μετά από χρόνια χορήγηση. Τα επίπεδα LiCl και VPA στο πλάσμα μετρήθηκαν μία και δώδεκα ώρες μετά την τελευταία χορήγηση του εκάστοτε φαρμάκου.

1.3.2. Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μετά από χρόνια χορήγηση. Η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκων και χρόνου ως προς τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού

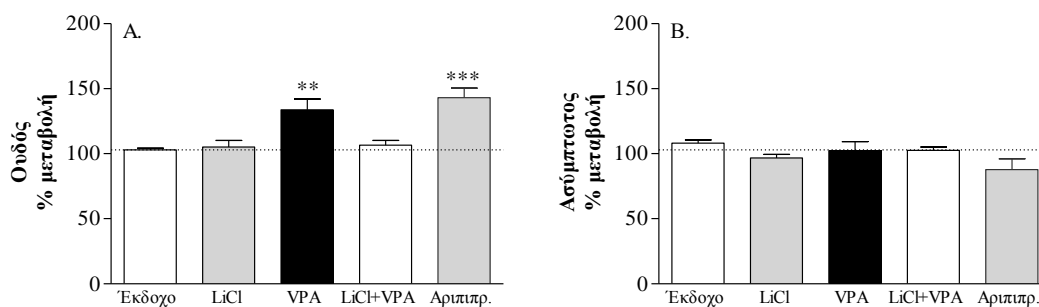
[F(16,120)=1.752, $p<0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α5). Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ομάδα χρόνιας χορήγησης εκδόχου έδειξε ότι το έκδοχο δεν επηρέασε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στο χρόνο [F(4,24)=0.213, $p>0.05$]. Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ομάδα χρόνιας χορήγησης LiCl (100mg/kg, i.p.) έδειξε ότι η επίδραση του LiCl στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού μεταβλήθηκε κατά τη διάρκεια της χρόνιας χορήγησής του [F(4,24)= 10.169, $p<0.001$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι οι επιδράσεις του LiCl κατά την εικοστή πρώτη μέρα χορήγησης διαφοροποιούνται από αυτές της πρώτης ημέρας χορήγησης (οξεία χορήγηση) ($p<0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α5Γ). Αντίθετα, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές της πρώτης ημέρας από την έκτη, την ενδέκατη και τη δέκατη έκτη ημέρα χορήγησης ($p>0.05$). Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ομάδα χρόνιας χορήγησης VPA έδειξε ότι η επίδραση του VPA στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού παρέμεινε σταθερή στο χρόνο [F(4,24)=1.552, $p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α5Ε). Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ομάδα χρόνιας συγχορήγησης LiCl & VPA έδειξε ότι η επίδραση της συγχορήγησης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού άλλαξε κατά τη χρόνια χορήγηση [F(4,24)=25.213, $p=0.002$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α5Ζ). Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι υπάρχουν διαφορές στις επιδράσεις της συγχορήγησης των δύο φαρμάκων μόνο μετά από είκοσι μία ημέρες χορηγήσεων ($p<0.05$) συγκριτικά με την πρώτη ημέρα ενώ δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές της πρώτης ημέρας από την έκτη, την ενδέκατη και τη δέκατη έκτη ημέρα χορήγησης ($p>0.05$). Η απλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ομάδα χρόνιας χορήγησης αριπιπραζόλης έδειξε ότι οι επιδράσεις του φαρμάκου στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού παραμένουν αμετάβλητες καθ' όλη τη διάρκεια της χρόνιας χορήγησης [F(4,24)= 0.749, $p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α5Θ). Επιπροσθέτως, η απλή ANOVA για την εικοστή πρώτη μέρα των χορηγήσεων έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων [F(4, 34)= 10.599, $p<0.001$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μετά από χρόνια χορήγηση μόνο το VPA ($p<0.01$) και η αριπιπραζόλη ($p<0.001$) παρουσίασαν ανηδονικές δράσεις ενώ οι ομάδες χρόνιας χορήγησης LiCl και χρόνιας συγχορήγησης LiCl & VPA δεν διαφοροποιούνται από την ομάδα της χρόνιας χορήγησης εκδόχου ($p>0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α6Α).



ΣΧΗΜΑ Α5. Επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης εκδόχου (Α και Β), LiCl (Γ και Δ), VPA (Ε και ΣΤ), LiCl & VPA (Ζ και Η) και αριπιπραζόλης (Θ και Ι) στον ουδό (αριστερή

στήλη) και στην ασύμπτωτο (δεξιά στήλη) ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. $**p<0.01$, $***p<0.001$, στατιστικά σημαντική απλή επίδραση του χρόνου χορήγησης. $+p<0.05$, στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την πρώτη ημέρα χορήγησης της εκάστοτε ομάδας, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

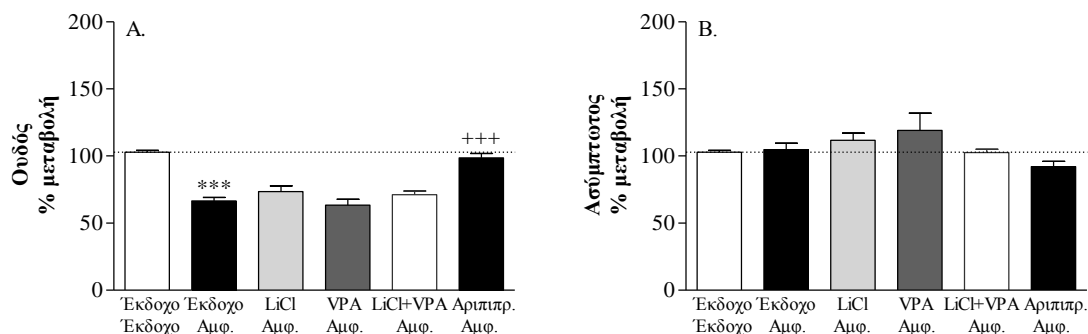
Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η διπλή ANOVA με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση φαρμάκου και χρόνου [$F(16,120)= 0.602$, $p>0.05$] αλλά ούτε και στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου [$F(4, 120)=2.174$, $p>0.05$]. Ωστόσο, αν και η ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση των φαρμάκων [$F(4, 30)=3.002$, $p<0.05$] το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ($p>0.05$).



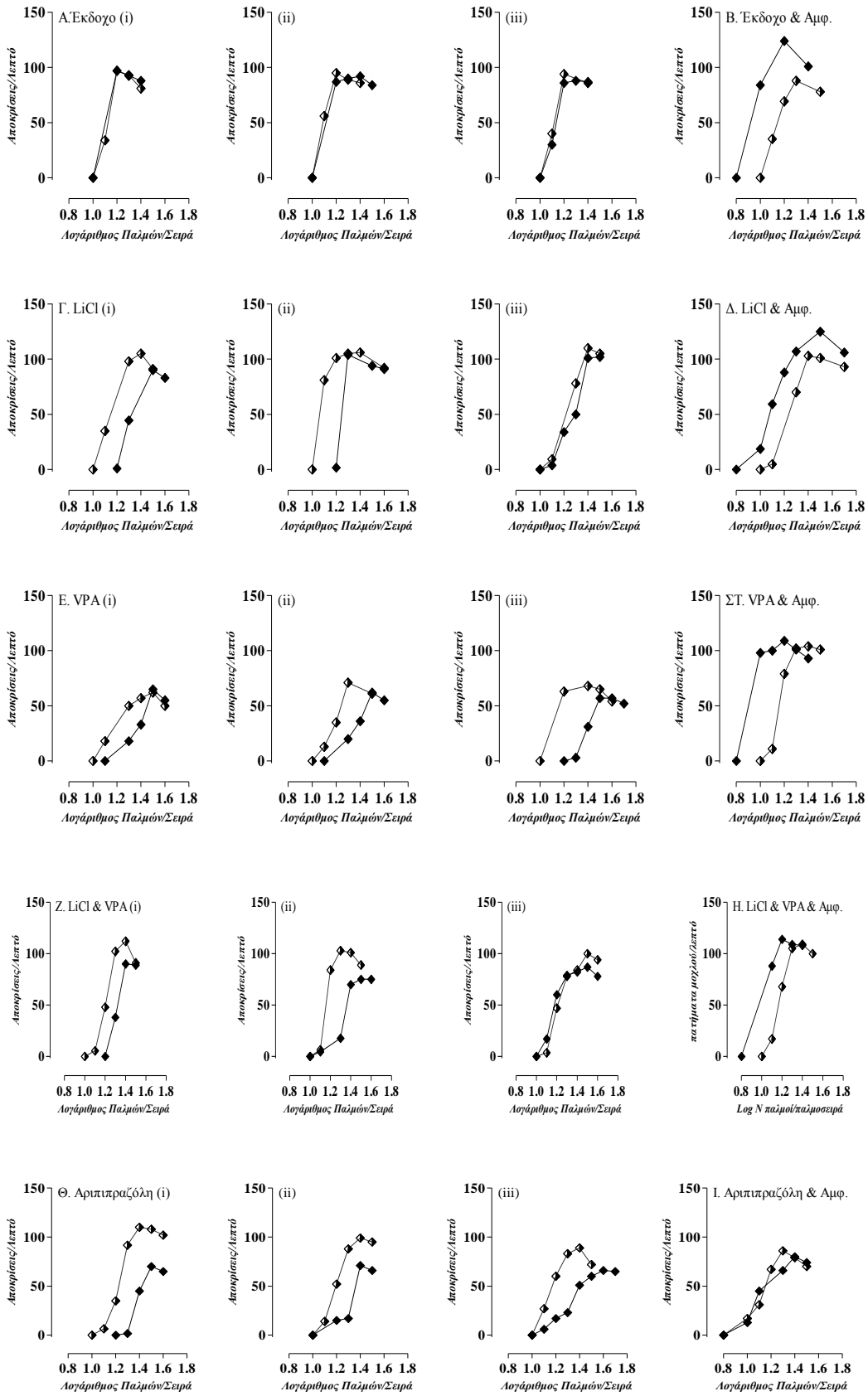
ΣΧΗΜΑ Α6. Επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στον ουδό (A) και στην ασύμπτωτο (B) ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού κατά την εικοστή πρώτη ημέρα της αγωγής. $** p<0.01$, $***p<0.001$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

1.4. Μελέτη τέταρτη: Μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η απλή ANOVA έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων αναφορικά με τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού [$F(4, 33)= 14.001$, $p<0.001$]. Περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η οξεία χορήγηση αμφεταμίνης (0.5mg/kg, i.p.) μείωσε στατιστικά σημαντικά τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ενώ μόνο στην ομάδα της χρόνιας χορήγησης αριπιπραζόλης ανεστάλησαν οι ενισχυτικές δράσεις της

αμφεταμίνης ($p < 0.001$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α7). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση LiCl, VPA καθώς και η χρόνια συγχορήγησή τους δεν επηρέασαν τη δράση της αμφεταμίνης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ($p > 0.05$). Αναφορικά με την ασύμπτωτο, η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων [$F(4, 33) = 2.265, p > 0.05$].



ΣΧΗΜΑ Α7. Επιδράσεις της χρόνιας προ-χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Α. Επιδράσεις στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Β. Επιδράσεις στην ασύμπτωτο. * $p < 0.001$, σε σχέση με την ομάδα εκδόχου & εκδόχου. +++ $p < 0.001$, σε σχέση με την ομάδα χορήγησης έκδοχο & αμφεταμίνη και με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.**

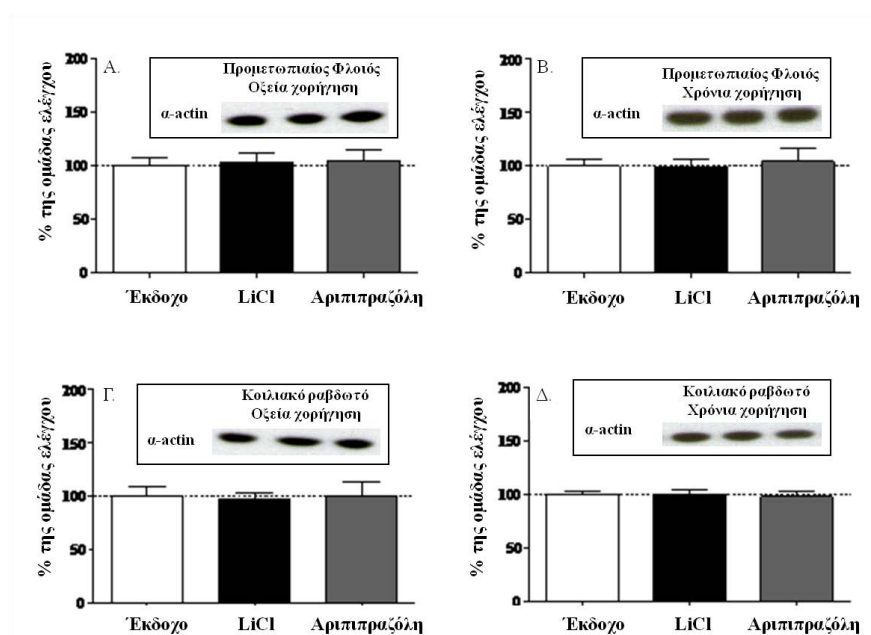


◆ Πριν τη χορήγηση
 ◆ Μετά τη χορήγηση

ΣΧΗΜΑ Α8. Καμπύλες ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού (λογάριθμος παλμών/σειρά - αποκρίσεις/λεπτό) από αντιπροσωπευτικά πειραματόζωα. Στα επιμέρους σχήματα των πρώτων τριών στηλών από αριστερά απεικονίζονται οι καμπύλες πειραματόζωων πριν και μετά την ημερήσια συστηματική χορήγηση εκδόχου, LiCl, VPA, συγχορήγησης LiCl και VPA και αριπιπραζόλης κατά την πρώτη ημέρα χορήγησης (i), κατα την ενδέκατη ημέρα χορήγησης (ii), και κατά την εικοστή πρώτη ημέρα χορήγησης (iii). Στην τέταρτη στήλη από αριστερά απεικονίζονται οι καμπύλες πειραματόζωων πριν και μετά την ημερήσια συστηματική χορήγηση του καθενός σταθεροποιητικού της διάθεσης και αμφεταμίνης.

2. Μοριακές μελέτες ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος

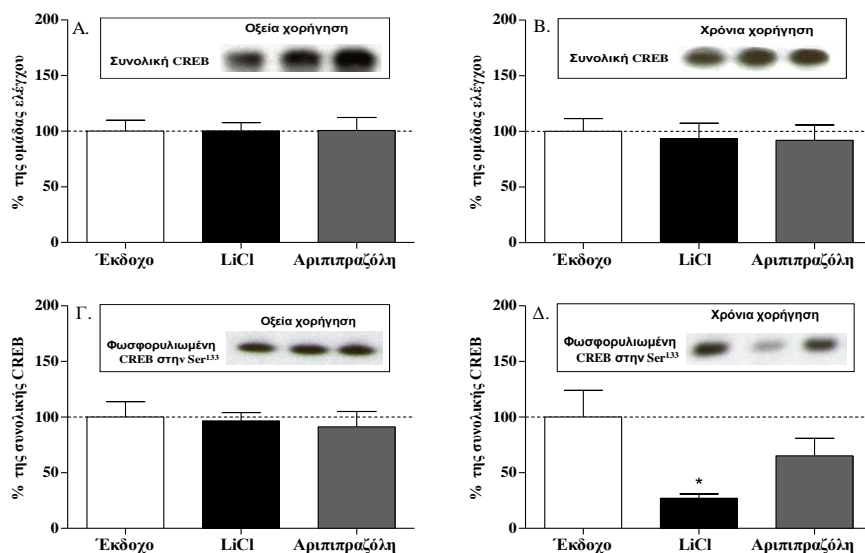
2.1. Έλεγχος ποσότητας πρωτεϊνών. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην α -actin μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 15) = 0.903, p > 0.05$ και $F(2, 15) = 0.962, p > 0.05$, αντίστοιχα] ή το κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 15) = 0.934, p > 0.05$ και $F(2, 15) = 0.910, p > 0.05$, αντίστοιχα] (βλ. ΣΧΗΜΑ Α9).



ΣΧΗΜΑ Α9. Έλεγχος ποσότητας πρωτεϊνών μελετώντας την α -actin στον προμετωπιαίο φλοιό (πάνω σειρά) και στο κοιλιακό ραβδωτό (κάτω σειρά) μετά από οξεία (αριστερή στήλη) και χρόνια (δεξιά στήλη) χορήγηση.

2.2. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό.

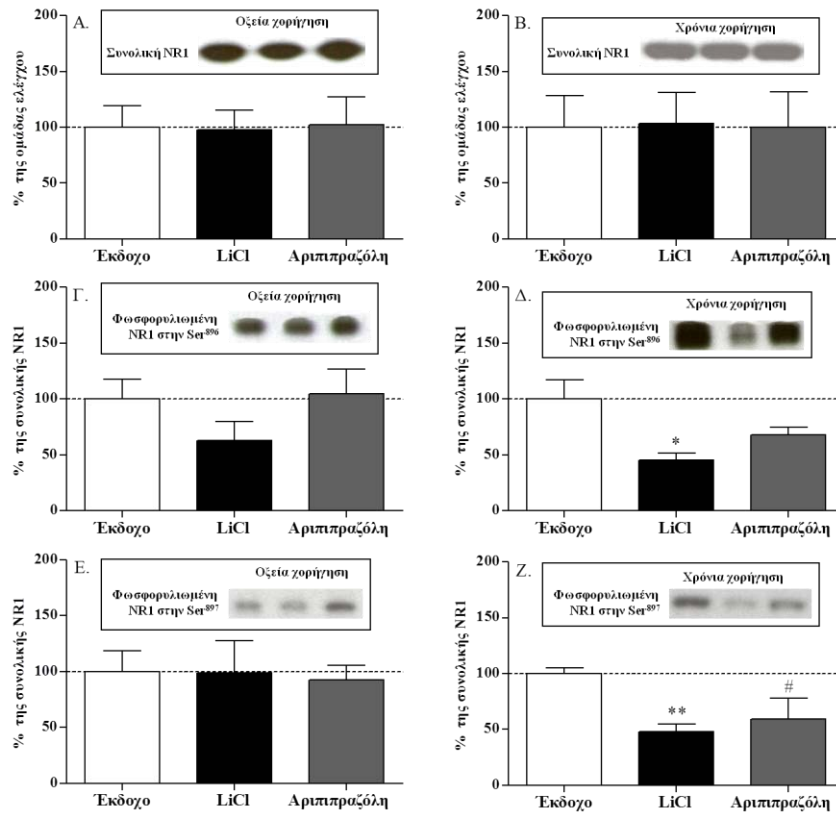
2.2.1. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι τόσο η οξεία όσο και η χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης δεν επηρέασαν τα συνολικά επίπεδα της πρωτεΐνης CREB στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 15) = 0.001, p > 0.05$ και $F(2, 15) = 0.096, p > 0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A10A και A10B). Επιπλέον, η οξεία χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB [$F(2, 15) = 0.132, p > 0.05$], ενώ αντίθετα η χρόνια χορήγησή τους επηρέασε στατιστικώς σημαντικά τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα [$F(2, 15) = 5.679, p < 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A10Γ). Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl ($p < 0.05$) και όχι αριπιπραζόλης ($p > 0.05$) μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB (Βλ. ΣΧΗΜΑ A10Δ). Η δράση της αριπιπραζόλης αναφορικά με τη φωσφορυλίωση του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική ούτε με τη χρήση του στατιστικού κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων LSD.



ΣΧΗΜΑ A10. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό. Συνολική πρωτεΐνη CREB (A και B).

Φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη CREB στην Ser¹³³ (Γ και Δ). * $p < 0.05$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

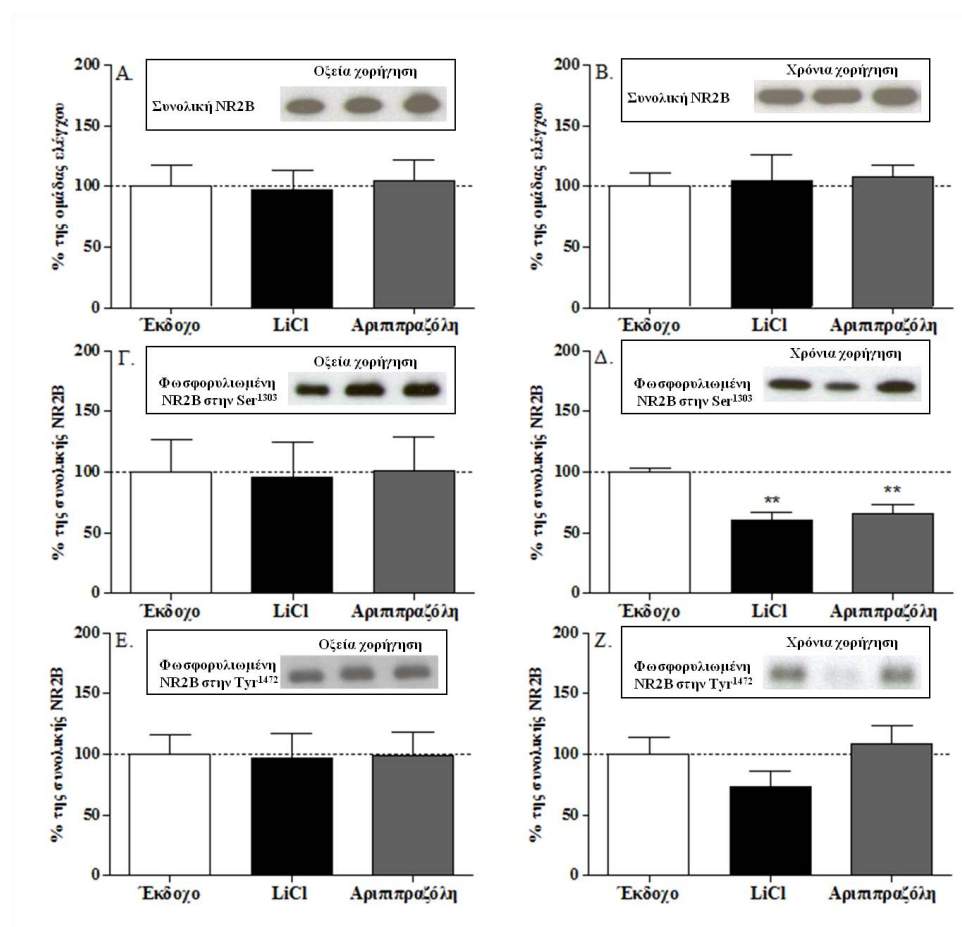
2.2.2. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην συνολική πρωτεΐνη NR1 μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 14) = 0.013$, $p > 0.05$ και $F(2, 14) = 0.005$, $p > 0.05$ αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A11A και A11B). Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς την φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁶ μετά από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης [$F(2, 14) = 1.530$, $p > 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A11Γ). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση τους επηρέασε τη φωσφορυλίωση στη θέση αυτή [$F(2, 14) = 6.071$, $p < 0.05$]. Περαιτέρω ανάλυση με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl ($p < 0.05$) και όχι αριπιπραζόλης μείωσε την επαγόμενη από την PKC φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας. Η τάση για μείωση της φωσφορυλίωσης αυτής μετά από τη χορήγηση αριπιπραζόλης δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική ούτε με τη χρήση του κριτηρίου LSD ($p > 0.05$) (Βλ. ΣΧΗΜΑ A11Δ). Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις στη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁷ μετά από την οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης [$F(2, 14) = 0.035$, $p > 0.05$]. Τέλος, η χρόνια χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης επηρέασε τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁷ [$F(2, 14) = 7.563$, $p < 0.01$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A11E). Εν συνεχεία, η ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη χρήση του κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση αυτή ($p < 0.001$) ενώ η μείωση της φωσφορυλίωσης της Ser⁸⁹⁷ μετά από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης βρέθηκε στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$) μόνο με τη χρήση του κριτηρίου LSD (Βλ. ΣΧΗΜΑ A11Z).



ΣΧΗΜΑ A11. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Συνολική NR1 πρωτεΐνη (A και B). Φωσφορυλιωμένη NR1 στην Ser⁸⁹⁶ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη NR1 στην Ser⁸⁹⁷ (E και Z). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni. # $p < 0.05$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD.

2.2.3. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ και Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική πρωτεΐνη NR2B μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 14) = 0.051$, $p > 0.05$ και $F(2, 14) = 0.057$, $p > 0.05$, αντίστοιχα] (βλ. ΣΧΗΜΑ A12A και A12B). Επιπλέον, σύμφωνα με την απλή ANOVA δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Ser¹³⁰³ μετά από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης [$F(2, 14) = 0.012$, $p > 0.05$] (βλ. ΣΧΗΜΑ A12Γ). Αντίθετα, η χρόνια χορήγησή τους επηρέασε τη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ [$F(2, 14) =$

13.709, $p < 0.05$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl ($p < 0.01$) όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ($p < 0.01$) μείωσαν τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Ser¹³⁰³ (Βλ. ΣΧΗΜΑ A12Δ). Αναφορικά με τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷², η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τη φωσφορυλίωση αυτή μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 14) = 0.02$, $p > 0.05$ και $F(2, 14) = 0.857$, $p > 0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A12E και A12Z).



ΣΧΗΜΑ A12. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Συνολική NR2B πρωτεΐνη (A και B). Φωσφορυλιωμένη NR2B στην Ser¹³⁰³ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη NR2B στην Tyr¹⁴⁷² (E και Z). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

2.2.4. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν

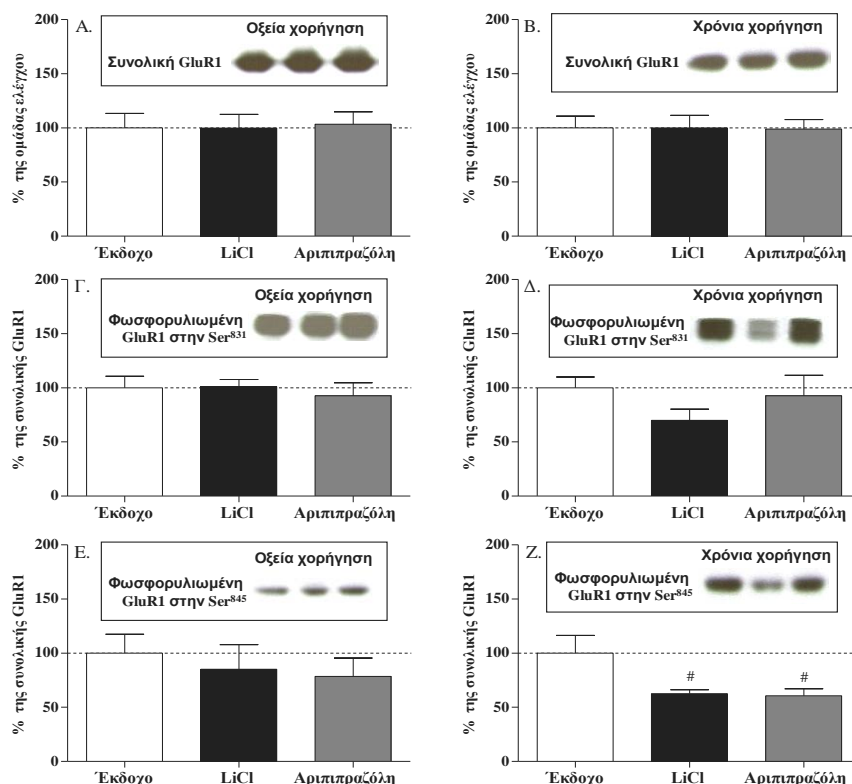
στατιστικά σημαντικές διαφορές στην συνολική πρωτεΐνη GluR1 μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 15)=0.026, p>0.05$ και $F(2, 15)=0.003, p>0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A13A και A13B). Επιπροσθέτως, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς την φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸³¹ τόσο μετά από οξεία [$F(2, 14)=0.839, p>0.05$] όσο και μετά από χρόνια χορήγηση [$F(2, 13)=1.211, p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A13Γ και A13Δ). Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ούτε στη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ μετά από την οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης [$F(2, 14)=0.728, p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A13E). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση των σταθεροποιητικών επηρέασε τη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ [$F(2, 13)=4.190, p<0.05$]. Περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη χρήση του κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων. Ωστόσο, η χρήση του κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων LSD υπέδειξε στατιστικά σημαντική μείωση της φωσφορυλίωσης της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ μετά από τη χρόνια χορήγηση τόσο LiCl ($p<0.05$) όσο και αριπιπραζόλης ($p<0.05$), υποδηλώνοντας μικρή μείωση των επιφανειακών AMPA υποδοχέων στην περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού (Βλ. ΣΧΗΜΑ A13Z).

2.3. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό.

2.3.1. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό.

Η απλή ANOVA έδειξε ότι τόσο η οξεία όσο και η χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης δεν επηρέασαν τα συνολικά επίπεδα της πρωτεΐνης CREB στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 15)=0.003, p>0.05$ και $F(2, 15)=0.129, p>0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A14A και A14B). Αν και η οξεία χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 15)=0.287, p>0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A14Γ), η χρόνια χορήγησή τους επηρέασε στατιστικώς σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB [$F(2, 15)=9.068, p<0.001$]. Επιπλέον, το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl

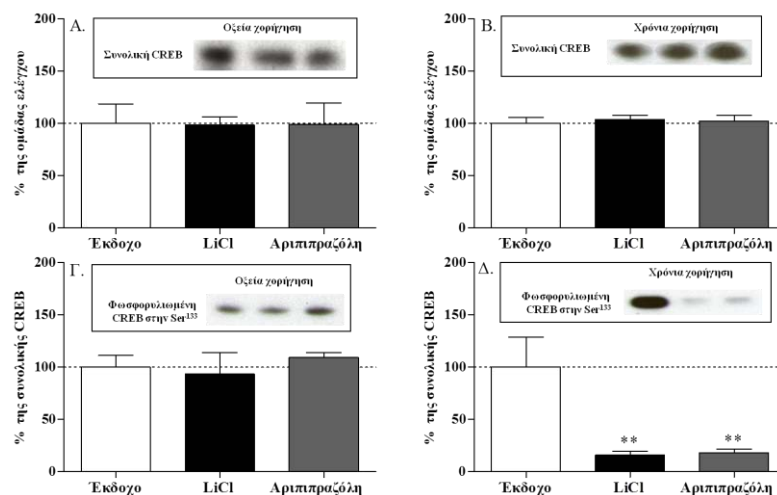
($p < 0.01$) όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ($p = 0.01$) μείωσαν σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB στο κοιλιακό ραβδωτό (Βλ. ΣΧΗΜΑ Α14Δ).



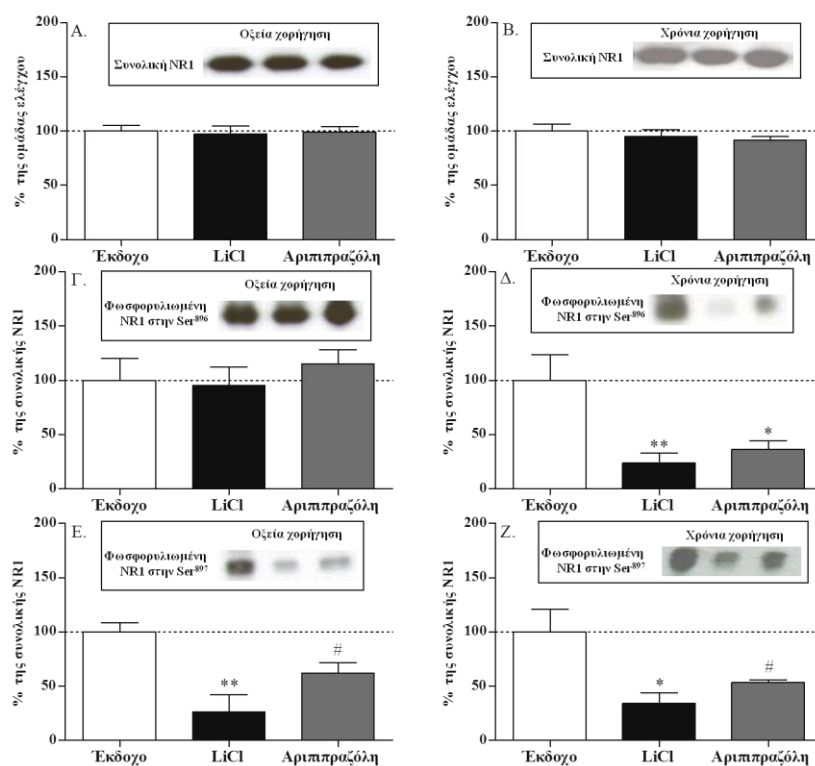
ΣΧΗΜΑ A13. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. GluR1 πρωτεΐνη (A και B). Φωσφορυλιωμένη GluR1 στην Ser⁸³¹ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ (E και Z). # $p < 0.05$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD.

2.3.2. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική πρωτεΐνη NR1 μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 14) = 0.052$, $p > 0.05$ και $F(2, 14) = 0.577$, $p > 0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A15A και A15B). Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁶ στο κοιλιακό ραβδωτό μετά από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών της

διάθεσης [$F(2, 14) = 0.390, p > 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A15Γ). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση τους επηρέασε τη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ [$F(2, 14) = 7.781, p < 0.01$]. Περαιτέρω ανάλυση με τη χρήση του κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl ($p < 0.01$) όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ($p < 0.05$) μείωσαν την επαγόμενη από την PKC φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁶ (Βλ. ΣΧΗΜΑ A15Δ). Η απλή ANOVA έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις στη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁷ μετά από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών και στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 14) = 10.073, p < 0.01$]. Τόσο η οξεία χορήγηση LiCl ($p < 0.01$) όσο και η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης ($p < 0.05$), μείωσαν τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁷ (Βλ. ΣΧΗΜΑ A15E). Επιπροσθέτως και η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών επηρέασε τη φωσφορυλίωση αυτή [$F(2, 14) = 5.459, p < 0.01$]. Περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη χρήση του κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁷ ($p < 0.05$) ενώ η μείωση της φωσφορυλίωσης αυτής μετά από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης βρέθηκε στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$) μόνο με τη χρήση του κριτηρίου LSD (Βλ. ΣΧΗΜΑ A15Z).



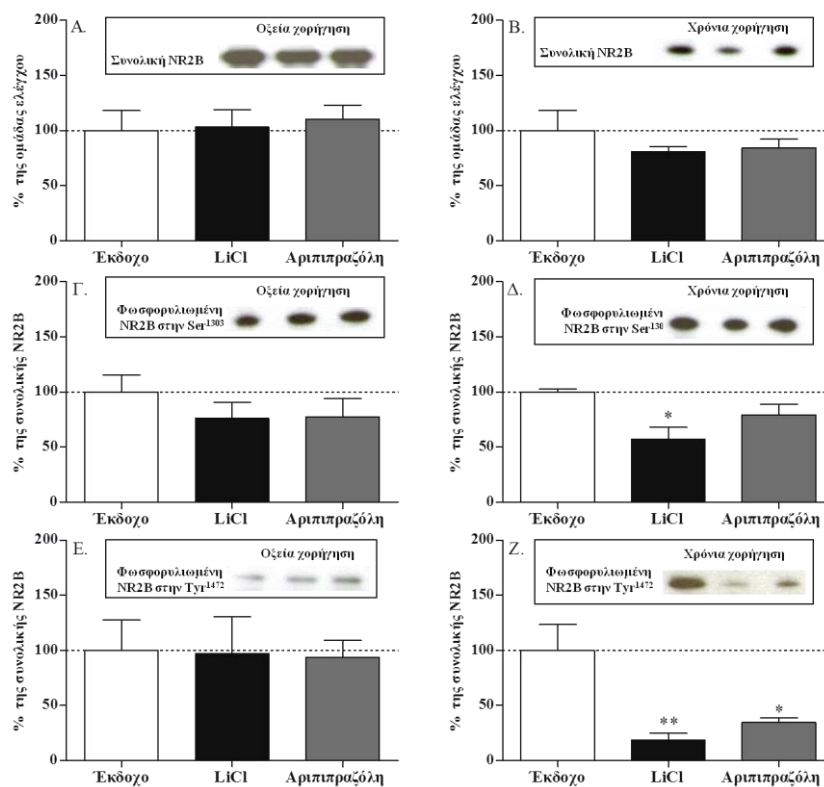
ΣΧΗΜΑ A14. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό. Συνολική πρωτεΐνη CREB (A και B). Φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη CREB στην Ser¹³³ (Γ και Δ). ** $p < 0.01$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.



ΣΧΗΜΑ A15. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό. Συνολική NR1 πρωτεΐνη (A και B). Φωσφορυλιωμένη NR1 στην Ser⁸⁹⁶ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη NR1 στην Ser⁸⁹⁷ (E και Z). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni. # $p < 0.05$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD.

2.3.3. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ και Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική πρωτεΐνη NR2B μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 15) = 0.098$, $p > 0.05$ και $F(2, 15) = 0.855$, $p > 0.05$, αντίστοιχα] (Bλ. ΣΧΗΜΑ A16A και A16B). Αξίζει να αναφέρουμε ότι υπάρχει μια μικρή τάση μείωσης της NR2B υπομονάδας μετά από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης. Σύμφωνα με την απλή ANOVA δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Ser¹³⁰³ μετά από την οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης [$F(2, 14) = 0.746$, $p > 0.05$]

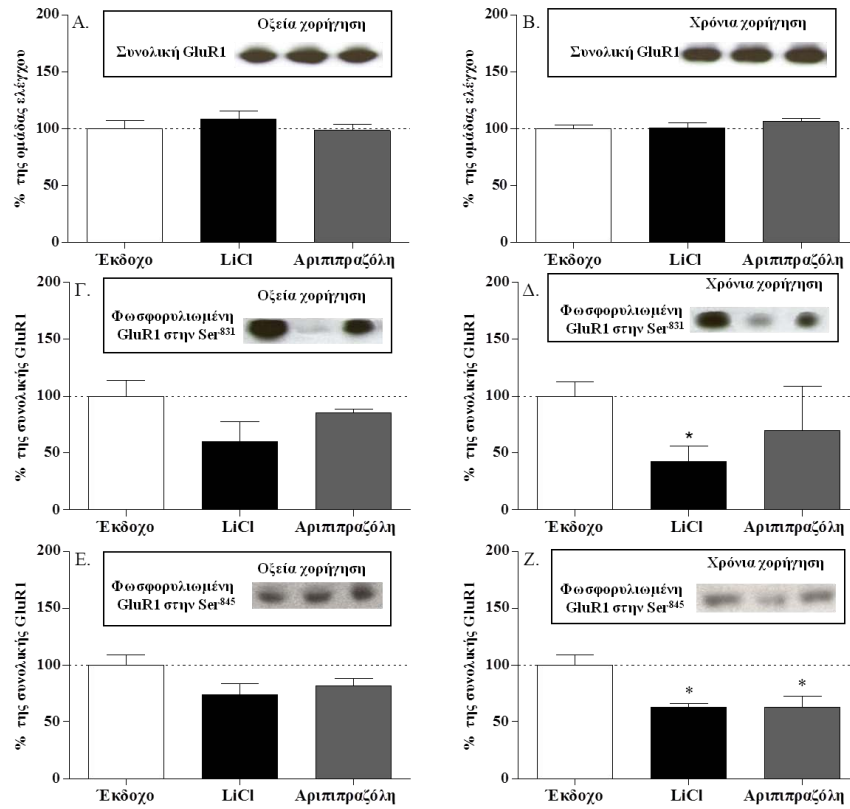
(Βλ. ΣΧΗΜΑ A16Γ). Αντιθέτως, η χρόνια χορήγησή τους επηρέασε τη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ [F(2, 15)= 13.709, p<0.05]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl (p<0.05) και όχι η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης (p>0.05) μείωσε τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Ser¹³⁰³ (Βλ. ΣΧΗΜΑ A16Δ). Σχετικά με τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷², η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις των διαφορετικών φαρμάκων μετά από την οξεία χορήγησή τους [F(2, 14)= 0.009, p>0.05] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A16E). Τέλος, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης επηρέασε τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² στο κοιλιακό ραβδωτό [F(2, 14)= 10.118, p<0.001]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl (p<0.01) όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης (p<0.05) μείωσαν στατιστικά σημαντικά τη φωσφορυλίωση στη θέση αυτή (Βλ. ΣΧΗΜΑ A16Z).



ΣΧΗΜΑ A16. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό. Συνολική NR2B πρωτεΐνη (A και B). Φωσφορυλιωμένη NR2B στην Ser¹³⁰³ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη NR2B στην

Tyr¹⁴⁷² (E και Z). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

2.3.4. Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό. Η απλή ANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική πρωτεΐνη GluR1 μετά από την οξεία ή τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό [$F(2, 15) = 0.700$, $p > 0.05$ και $F(2, 15) = 0.801$, $p > 0.05$, αντίστοιχα] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A17A και A17B). Επιπλέον, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών φαρμάκων ως προς τη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸³¹ μετά από οξεία χορήγηση [$F(2, 14) = 2.327$, $p > 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A17Γ). Η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης επηρέασε τη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸³¹ στο κοιλιακό ραβδωτό [$F(2, 15) = 6.211$, $p < 0.05$]. Περαιτέρω ανάλυση με κριτήρια πολλαπλών συγκρίσεων έδειξε ότι μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση αυτή ($p < 0.05$ με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni) (Βλ. ΣΧΗΜΑ A17Δ). Η απλή ANOVA έδειξε ότι παρά τις τάσεις για μείωση, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ μετά από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών [$F(2, 14) = 2.466$, $p > 0.05$] (Βλ. ΣΧΗΜΑ A17E). Ωστόσο, η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών επηρέασε τη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ [$F(2, 14) = 7.603$, $p < 0.05$]. Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni έδειξε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl ($p < 0.05$) όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ($p < 0.05$) μειώνουν τη φωσφορυλίωση της GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ και κατ' επέκταση το ποσοστό των επιφανειακών AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό (Βλ. ΣΧΗΜΑ A17Z).



ΣΧΗΜΑ ΑΠ17. Επιδράσεις της οξείας (αριστερή στήλη) και χρόνιας (δεξιά στήλη) χορήγησης εκδόχου, LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό . Συνολική GluR1 πρωτεΐνη (Α και Β). Φωσφορυλιωμένη GluR1 στην Ser⁸³¹ (Γ και Δ). Φωσφορυλιωμένη GluR1 στην Ser⁸⁴⁵ (Ε και Ζ). * $p < 0.05$, με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

ΣΤ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Συμπεριφορικές μελέτες

1.1. Επιδράσεις οξειών χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. (i) LiCl. Αναφορικά με τα αποτελέσματα από τα πειράματα της οξείας χορήγησης LiCl, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι αν και σε χαμηλές δόσεις (12.5-50mg/kg, i.p.) το LiCl δεν επηρεάζει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, σε μεγάλες δόσεις (100 και 200mg/kg, i.p.) προκαλεί σημαντική αύξησή του υποδηλώνοντας ότι το LiCl μειώνει την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού και κατά συνέπεια έχει ανηδονικές επιδράσεις. Οι μετατοπίσεις προς τα δεξιά της καμπύλης συχνότητας-αποκρίσεων έπειτα από την οξεία χορήγηση LiCl ήταν δοσο-εξαρτώμενες. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με προγενέστερες μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού οι οποίες είχαν δείξει αύξηση του ουδού μόνο σε μεγάλες δόσεις LiCl (Tomasiewicz et al., 2008; Takigawa et al., 1994; Cassens & Mills, 1973). Ωστόσο, η δράση αυτή δε βρέθηκε να διαφοροποιείται χρονικά μεταξύ των δύο πειραματικών συνεδριών που πραγματοποιήθηκαν μετά τη χορήγηση του φαρμάκου, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου (20 λεπτά έως 120 λεπτά μετά τη χορήγηση). Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι το LiCl επιδεικνύει μακράς διάρκειας δράση στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Αναφορικά με την ασύμπτωτο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, το LiCl, σε μικρές δόσεις δεν επηρέασε σημαντικά το μέγιστο ποσοστό αποκρίσεων των πειραματόζωων, ενώ σε μεγάλες δόσεις μείωσε σημαντικά το μέγιστο ποσοστό αποκρίσεων των πειραματόζωων. Ωστόσο, η μείωση αυτή δεν αντικατοπτρίζει κάποια επίδραση στην ενίσχυση του πειραματόζωου από τον ερεθισμό⁴⁴ αλλά πρόκειται για μεταβολή στην απόδοσή του, κάτι που σχετίζεται με αλλαγές στην κινητική του δραστηριότητα. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε στις παρούσες μελέτες έχει τη δυνατότητα διάκρισης μεταξύ ενίσχυσης και απόδοσης (Βλ. αντίστοιχο κεφάλαιο μεθοδολογίας). Το τελευταίο

⁴⁴Το μοντέλο υπολογισμού του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διατριβή, όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας, μπορεί να εκτιμήσει και να διακρίνει μεταβολές στην ενίσχυση από αυτές στην απόδοση του πειραματοζώου.

αποδεικνύεται και από το εύρημα ότι η μείωση στην απόδοση του πειραματόζωου δεν σχετίζεται πάντα με αύξηση στον ουδό καθώς έχει παρατηρηθεί και μείωση στην ασύμπτωτο με ταυτόχρονη μείωση του ουδού (Panagis & Spyragi, 1996).

(ii) VPA. Οι χαμηλές δόσεις VPA (100-200 mg/kg, i.p.) δεν επηρέασαν τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ αντίθετα, παρατηρήθηκε αύξηση μετά από τη χορήγηση της μεγαλύτερης δόσης (400 mg/kg, i.p.). Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι το VPA προκαλεί ανηδονία μόνο σε μεγάλες δόσεις. Η δράση του VPA στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού βρέθηκε σταθερή στο χρόνο, εύρημα που υποδεικνύει ότι η ανηδονική δράση του VPA είναι μακράς διάρκειας. Η μελέτη των Tomasiwicz και συν. (2006) δεν έδειξε κάποια επίδραση του VPA στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ωστόσο, η μεγαλύτερη δόση VPA που χρησιμοποιήθηκε ήταν τα 300mg/kg, i.p. ενώ οι ανηδονικές δράσεις που βρέθηκαν στην παρούσα διατριβή αφορούσαν στη δόση των 400mg/kg, i.p. Έτσι, το γεγονός ότι τα ευρήματα των Tomasiwicz και συν. είναι αρνητικά πιθανώς να σχετίζεται με το ότι, ο ουδός⁴⁵ πρόκλησης ανηδονικών δράσεων να βρίσκεται εντός αυτού του εύρους (300-400mg/kg, i.p.). Αντίθετα με το LiCl, το VPA δεν επηρέασε σημαντικά την ασύμπτωτο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, βεβαιώνοντας για άλλη μια φορά ταυτόχρονα την αξιοπιστία του μοντέλου μας αναφορικά με το διαχωρισμό ενίσχυσης και απόδοσης.

(iii) Συγχορήγηση LiCl & VPA. Στην κλινική πράξη για την επιτυχή αντιμετώπιση της ΔΔ ελάχιστες φορές χρησιμοποιείται ένα μόνο φάρμακο (μονοθεραπεία). Αντίθετα, στους ασθενείς συνήθως χορηγούνται παράλληλα δύο ή τρία φαρμακευτικά σκευάσματα. Αυτή η συγχορήγηση φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερη ως προς την άμβλυνση της συμπτωματολογίας των διπολικών ασθενών (Vieta et al., 2011· Reischies et al., 2002· Solomon et al., 1997· Sharma et al., 1993). Καθώς δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία προγενέστερες μελέτες σε πειραματόζωα που να ελέγχουν τη δράση της συγχορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης, θεωρήσαμε εύλογο να ελέγξουμε τις επιδράσεις της συγχορήγησης LiCl και VPA, των δύο κύριων σταθεροποιητικών της διάθεσης, που συγχορηγούνται σε ασθενείς με ΔΔ, στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δόσεις LiCl και VPA που από μόνες τους ήταν μη-δραστικές. Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι και η συγχορήγηση μη

⁴⁵ Εδώ η αναφορά αφορά τον φαρμακολογικό ουδό και όχι τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

δραστικών δόσεων LiCl και VPA μπορεί να αυξήσει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, επιδεικνύοντας ανηδονικές δράσεις. Η δράση αυτή βρέθηκε σημαντική μόνο για τις δόσεις των 50mg/kg, i.p. LiCl και 200mg/kg, i.p. VPA. Αντίθετα, συγχορήγηση μικρότερης δόσης LiCl (25mg/kg, i.p.) και 200mg/kg, i.p. VPA ή μικρότερης δόσης VPA (100mg/kg, i.p.) και 50mg/kg, i.p. LiCl δεν επηρέασαν τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Τα δεδομένα αυτά στηρίζουν την υπόθεση ότι συγκεκριμένες ψυχοτρόποι ουσίες μπορεί να επηρεάζουν την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού μέσω ενός κοινού μηχανισμού (Wise, 1996). Καμία από τις αγωγές αυτές δεν επηρέασε σημαντικά το μέγιστο ποσοστό αποκρίσεων των πειραματόζων, δηλαδή την ασύμπτωτο.

(iv) Αριπιπραζόλη. Δεν υπάρχουν προγενέστερες μελέτες που να αξιολογούν τις επιδράσεις της αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι ενώ μικρές δόσεις (0.075-0.25mg/kg, i.p.) δεν επηρεάζουν την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού, μεγαλύτερες δόσεις επιδεικνύουν μια δοσο-εξαρτώμενη αύξηση στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (0.75-2.5mg/kg, i.p.). Το εύρημα αυτό συνάδει με προγενέστερα ευρήματα αναφορικά με τις επιδράσεις τυπικών (Miyata et al., 2011; Flagstad et al., 2006) και άτυπων αντιψυχωσικών (Montes et al., 2005) τα οποία είναι γνωστό ότι μειώνουν την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. Επιπροσθέτως, έχει προταθεί ότι το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε συνδυασμό με το πρότυπο υπεδραστηριότητας επαγόμενης από ψυχοδιεγερικά μπορεί να αξιοποιηθεί για τον έλεγχο φαρμάκων που διαθέτουν αντιψυχωσικές δράσεις (Takigawa et al., 1994). Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε την ασύμπτωτο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

(v) Σύνοψη επιδράσεων οξειών χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης. Συμπερασματικά, όλα τα σταθεροποιητικά της διάθεσης που χορηγήθηκαν αύξησαν τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και άρα επέδειξαν ανηδονικές δράσεις. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι οι θεραπείες αυτές επηρεάζουν το κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου. Ο κοινός μηχανισμός με τον οποίο ασκούν τις ανασταλτικές τους δράσεις στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ενδεχομένως σχετίζεται με την αποτελεσματικότητά τους στη θεραπεία της ΔΔ. Πρέπει επίσης να σημειώσουμε ότι η δράση των σταθεροποιητικών της διάθεσης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού είναι αντίθετη από αυτή που παρατηρείται έπειτα από τη χορήγηση εθιστικών ουσιών, όπως η αμφεταμίνη (Gallister & Karras, 1984). Επιπλέον, η μανιακή φάση

της ΔΔ έχει συσχετιστεί με συμπτώματα όπως η έξαρση, η ευφορία και η αυξημένη ηδονική ορμή που μπορεί να παρουσιάζουν υψηλή συσχέτιση με τη μείωση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού που προκαλεί η χορήγηση αμφεταμίνης σε πειραματόζωα.

Η μείωση της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού που παρατηρήσαμε και ουσιαστικά μεταφράζεται σε ανηδονία πιθανώς παρατηρείται και στον κλινικό πληθυσμό. Αυτό είναι πιθανό να σχετίζεται σε ένα βαθμό ή/και να οδηγεί στη μειωμένη συμμόρφωση των ασθενών στη θεραπεία, η οποία είναι καλά τεκμηριωμένη. Μελλοντικές μελέτες σε κλινικό πληθυσμό θα πρέπει να προσδιορίσουν το βαθμό στον οποίο τα δεδομένα μας από το ζωικό αυτό μοντέλο μελέτης του κυκλώματος ανταμοιβής μπορούν να αναχθούν στον άνθρωπο. Σε κάθε περίπτωση, τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι τα υπό μελέτη σταθεροποιητικά της διάθεσης προκαλούν μια ακριβώς αντίθετη κατάσταση από την έξαρση, την ευφορία και την αυξημένη ηδονική ορμή που βιώνουν οι διπολικοί ασθενείς κατά τη μανιακή φάση της ΔΔ.

1.2. Επιδράσεις οξειών χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η αμφεταμίνη, όπως έχει παρατηρηθεί γενικά με τα ψυχοδιεγερτικά φάρμακα, μείωσε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι το ποσό διέγερσης που απαιτείται για τη διατήρηση της απόδοσης των πειραματοζώων σε ένα δεδομένο επίπεδο είναι μικρότερο (Miliaressis et al., 1986). Επομένως, η αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού είναι αυξημένη. Η δράση αυτή συνάδει με αποτελέσματα από προγενέστερες μελέτες που εξέταζαν τις δράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας ή άλλων πυρήνων (Antonioni et al., 2004· Bossert & Franklin, 2003· Carr et al., 2002· Lin et al., 2002· Bespalov et al., 1999· Depoortere et al., 1999· Frank et al., 1995· Gallistel & Freyd, 1987· Van Ree & Otte, 1980).

(i) LiCl. Η οξεία χορήγηση LiCl (100mg/kg, i.p.) ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη (0.5mg/kg, i.p. αλλά όχι του 1mg/kg, i.p) αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι το LiCl ασκεί αντιμανιακές δράσεις στο φαρμακοεπαγόμενο μοντέλο

μανίας που χρησιμοποιήσαμε. Ωστόσο, στη μικρή δόση που χρησιμοποιήσαμε (50mg/kg, i.p.) η οξεία χορήγηση LiCl δεν ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Επιπροσθέτως, η οξεία χορήγηση της δόσης αυτής LiCl, δεν επηρέασε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι ο φαρμακολογικός ουδός ρύθμισης του κυκλώματος ανταμοιβής του LiCl και ο φαρμακολογικός ουδός άσκησης αντιμανιακών δράσεων ενδεχομένως ταυτίζονται.

(ii) VPA. Η οξεία χορήγηση VPA (200 και 400mg/kg, i.p.) δεν ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη (0.5 και 1mg/kg, i.p) αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Επομένως, για το VPA (400mg/kg, i.p.) μπορούμε να θεωρήσουμε ότι αν και επιδεικνύει ανηδονικές δράσεις, η ικανότητά του για αντιμανιακές δράσεις είναι πολύ χαμηλή, καθώς δεν μπορεί να αναστείλει τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης στο φαρμακοεπαγόμενο μοντέλο μανίας. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με πολλές κλινικές μελέτες που υποδεικνύουν ότι η αποτελεσματικότητα του VPA και των αντιεπιληπτικών είναι μεγαλύτερη κατά την καταθλιπτική φάση της διαταραχής.

(iii) Συγχορήγηση LiCl & VPA. Στη μελέτη αυτή συγχορήγησαμε και πάλι δόσεις που από μόνες τους είναι μη-δραστικές. Με βάση τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραμάτων, επιλέξαμε να χορηγήσουμε 50mg/kg, i.p. LiCl και 100 ή 200 mg/kg, i.p. VPA. Ο πειραματικός αυτός σχεδιασμός ακολουθήθηκε ώστε να είναι η μελέτη μας πιο «ευαίσθητη» στην εύρεση ενδεχόμενων αντιμανιακών δράσεων του VPA. Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι η οξεία συγχορήγηση των μεγαλύτερων δόσεων που χρησιμοποιήθηκαν (50mg/kg, i.p. LiCl και 200 mg/kg, i.p. VPA) ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη (0.5mg/kg, i.p. αλλά όχι του 1mg/kg, i.p) αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Αντίθετα, η συγχορήγηση 50mg/kg, i.p. LiCl και της μικρότερης δόσης VPA (100 mg/kg, i.p.) δεν επηρέασε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι οι αντιμανιακές δράσεις της συγχορήγησης των δύο σταθεροποιητικών της διάθεσης εξαρτώνται και από το VPA και ότι LiCl και VPA δρουν συνεργικά για να ασκήσουν τις δράσεις αυτές. Τα δεδομένα μας δικαιολογούν και τα όσα συμβαίνουν στην κλινική πράξη, καθώς σπάνια χρησιμοποιείται μονοθεραπεία για την αντιμετώπιση της ΔΔ, ενώ η συγχορήγηση των δύο σταθεροποιητικών φαίνεται να είναι συχνή.

(iv) Αριπιπραζόλη. Η αριπιπραζόλη (1.5mg/kg, i.p.) ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη (0.5 και 1mg/kg, i.p) αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Μάλιστα, ενώ το LiCl, και η συγχορήγηση LiCl και VPA επηρέασαν μόνο τη δράση του 0.5mg/kg αμφεταμίνης, η αριπιπραζόλη ανέστειλε και τις δράσεις του 1mg/kg αμφεταμίνης. Το εύρημα αυτό συνάδει με το αντιψυχωσικό/αντιμανιακό προφίλ του φαρμάκου αναδεικνύοντάς το ως ισχυρή αντιμανιακή αγωγή, τουλάχιστον για τον υπό μελέτη ενδοφαινότυπο μανιακής συμπεριφοράς.

Τα δεδομένα μας συμφωνούν με προγενέστερες μελέτες που υποδεικνύουν ότι η αριπιπραζόλη αναστέλλει τις ενισχυτικές δράσεις των ψυχοδιεγερτικών σε πειραματικά μοντέλα ζώων καθώς και τις υποκειμενικές και διακριτικές-διαφοροποιητικές επιδράσεις της αμφεταμίνης στον άνθρωπο (Newton et al., 2008· Wee et al., 2007· Stoops et al., 2006· Lile et al., 2005). Επιπλέον, η αριπιπραζόλη έχει προταθεί ως θεραπεία για την εξάρτηση σε ψυχοδιεγερτικά (Meini et al., 2011· Feltenstein et al., 2009· Haney & Spealman, 2008· Sørensen et al., 2008· Feltenstein et al., 2007· Stoops, 2006) και για τη συννοσηρότητα σχιζοφρένειας-κατάχρησης ψυχοδιεγερτικών (Beresford et al., 2005).

(v) Σύνοψη επιδράσεων οξειών χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Κατά τη μανιακή φάση της ΔΔ οι διπολικοί ασθενείς παρουσιάζουν έξαρση, ευφορία και αυξημένη αναζήτηση ηδονικών ερεθισμάτων. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της μανίας είναι η ροπή για κατάχρηση ουσιών, το οποίο δικαιολογεί και το αυξημένο ποσοστό κατάχρησης ουσιών που παρατηρείται στην ΔΔ. Ωστόσο, το φαρμακοεπαγόμενο μοντέλο μανίας που χρησιμοποιήσαμε δεν είχε χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη μελέτη των επιδράσεων των σταθεροποιητικών της διάθεσης στο συγκεκριμένο ενδοφαινότυπο μανιακής συμπεριφοράς.

Τα δεδομένα μας υποστηρίζουν την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των σταθεροποιητικών της διάθεσης στο πρότυπο αυτό. Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η οξεία χορήγηση LiCl, η οξεία συγχορήγηση LiCl και VPA και η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης, ανέστειλαν την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού, ενώ αντίθετα, η οξεία χορήγηση VPA δεν επηρέασε τις δράσεις της αμφεταμίνης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ωστόσο, φαίνεται ότι το VPA διευκόλυνε την

έκφραση των αντιμανιακών δράσεων του LiCl στο συμπεριφορικό πρότυπο που χρησιμοποιήσαμε.

Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι όλα τα σταθεροποιητικά που χρησιμοποιήσαμε, πλην του VPA⁴⁶ επιδεικνύουν αντιμανιακές δράσεις στον μανιακό ενδοφαινότυπο που μελετήσαμε έπειτα από οξεία χορήγηση. Τα παραπάνω συμφωνούν με κλινικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι το λίθιο και τα αντιψυχωσικά είναι αποτελεσματικότερα κατά την μανιακή φάση της ΔΔ ενώ το VPA φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερο κατά την καταθλιπτική φάση της νόσου (Geddes et al., 2004· Burgess et al., 2001· Swann et al., 1997· Frost & Messiha, 1983). Έτσι, διπολικοί ασθενείς με προεξάρχοντα καταθλιπτικά χαρακτηριστικά, ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπεία με VPA ενώ το λίθιο φαίνεται ότι είναι αποτελεσματικότερο για τη θεραπεία ασθενών με κλασική μανία χαρακτηριζόμενη από δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου. Επιπλέον, το λίθιο φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερο στην αντιμετώπιση μανιακών υποτροπών ενώ αντίθετα το VPA είναι αποτελεσματικότερο στην πρόληψη των καταθλιπτικών υποτροπών (Geddes et al., 2004· Gyulai et al., 2003· Burgess et al., 2001· Swann et al., 1997· Bowden, 1995). Τα δεδομένα αυτά συμφωνούν με τα δικά μας ευρήματα καθώς και με πειραματικά δεδομένα στον άνθρωπο που υποδεικνύουν ότι το λίθιο εξασθενεί την επαγόμενη από αμφεταμίνη ευφορική διάθεση στον άνθρωπο (Angrist & Gershon, 1979).

Η αμφεταμίνη δρα αυξάνοντας την απελευθέρωση ντοπαμίνης στις νευρωνικές απολήξεις, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων ντοπαμίνης στη σύναψη. Έτσι, ο μηχανισμός μέσω του οποίου το LiCl και τα άλλα σταθεροποιητικά εξασθενούν τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης θα μπορούσε να σχετίζεται με τις επιδράσεις τους στη ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση. Υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι το LiCl αλλά όχι το VPA μειώνει τη ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση στον επικλινή πυρήνα (Ichikawa et al., 2005b). Εικάζουμε ότι οι νευροχημικές αυτές αλλαγές μπορεί να σχετίζονται με την αναστολή των ενισχυτικών δράσεων της αμφεταμίνης. Ενδιαφέρον είναι το εύρημα ότι το VPA, η οξεία χορήγηση του οποίου δεν εξασθένησε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης, δεν έχει βρεθεί να μειώνει την απελευθέρωση ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα αλλά αυξάνει εκλεκτικά την απελευθέρωση ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό

⁴⁶ Έπειτα από οξεία μονοθεραπεία.

(Ichikawa & Meltzer, 1999· Ichikawa et al., 2005a). Η οξεία χορήγηση LiCl μπορεί να μειώσει την απελευθέρωση ντοπαμίνης στην περιοχή αυτή που σχετίζεται με τις ευφορικές δράσεις της αμφεταμίνης. Καθώς η αυξημένη απελευθέρωση ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα θεωρείται ότι επιδεινώνει τα συμπτώματα των διπολικών ασθενών, εικάζουμε ότι το LiCl μπορεί να επιδεικνύει αυτές τις δράσεις ομαλοποιώντας την ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση στην περιοχή αυτή. Προς αυτή την κατεύθυνση, υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι το LiCl αναστέλλει και άλλες συμπεριφορές επαγόμενες από αμφεταμίνη σε πειραματόζωα (Gould et al., 2001· Berggren et al., 1978· Borison et al., 1978· Cox et al., 1971).

1.3. Επιδράσεις χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. (i) LiCl. Η χρόνια χορήγηση LiCl οδήγησε στην ανάπτυξη αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου. Στο συμπεριφορικό φαινότυπο, η ανάπτυξη αντοχής αντικατοπτρίζεται στις διαφορετικές επιδράσεις του LiCl στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έπειτα από χρόνια χορήγηση σε σχέση με την πρώτη ημέρα χορήγησής του. Κατά την 21^η ημέρα χορήγησης, η ομάδα χρόνιας χορήγησης LiCl δε διέφερε σημαντικά από την ομάδα χρόνιας χορήγησης εκδόχου. Έτσι, το κύκλωμα ανταμοιβής φαίνεται να μην επηρεάζεται από το LiCl έπειτα από χρόνια χορήγηση, όπως συμβαίνει με την οξεία χορήγησή του. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν πιθανές αλλαγές σε επίπεδο νευρωνικής πλαστικότητας έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και γι' αυτό το λόγο αποτέλεσαν το στόχο διερεύνησης των μοριακών μας μελετών.

Αν και δεν υπάρχουν προγενέστερες μελέτες αναφορικά με τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης λιθίου, τα ευρήματα μας συνάδουν με δεδομένα από χρόνιες χορηγήσεις αλοπεριδόλης. Πιο συγκεκριμένα, όπως συμβαίνει και με την οξεία χορήγηση λιθίου, έτσι και η οξεία χορήγηση αλοπεριδόλης αυξάνει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού υποδηλώνοντας ανηδονικές δράσεις (Miyata et al., 2011· Flagstad et al., 2006). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση αλοπεριδόλης οδηγεί σε μείωση του ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και διευκόλυνση της συμπεριφοράς υποδηλώνοντας αντίθετα αποτελέσματα. Η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αλοπεριδόλης έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη αυξημένης ευαισθησίας στη ντοπαμίνη στη μεσομεταιχμιακή ντοπαμινεργική οδό (Seeger et al., 1981· Seeger & Gardner, 1979).

(ii) **VPA.** Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν προγενέστερες μελέτες που να αξιολογούν τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης VPA στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Τα δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι σε αντίθεση με ότι παρατηρήθηκε μετά από χρόνια χορήγηση LiCl, η χρόνια χορήγηση VPA επέδειξε σταθερή ανηδονική δράση. Επομένως δεν υπήρξε διαφορετική επίδραση στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού ανάμεσα στην 1^η και την 21^η ημέρα χορήγησης. Προφανώς η χρόνια χορήγηση VPA δε φαίνεται να αλλάζει κάτι ως προς τη δραστηριότητά του για αρνητική ρύθμιση του κυκλώματος ανταμοιβής.

(iii) **Συγχορήγηση LiCl και VPA.** Όπως παρατηρήθηκε μετά τη χρόνια χορήγηση LiCl, έτσι και η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA οδήγησε στην ανάπτυξη αντοχής στις ανηδονικές δράσεις των φαρμάκων. Επομένως, ενώ η οξεία χορήγησή τους αυξάνει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού επιδεικνύοντας ανηδονικές δράσεις, η χρόνια χορήγησή τους οδήγησε στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής σε αυτήν τη δράση. Έτσι, την 21^η ημέρα χορήγησης, η ομάδα συγχορήγησης LiCl και VPA δεν βρέθηκε να διαφέρει από την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου.

(iv) **Αριπιπραζόλη.** Η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης επέδειξε επίσης σταθερή ανηδονική δράση. Η ανηδονική δράση της αριπιπραζόλης ήταν εμφανής σε όλα τα χρονικά σημεία που μετρήθηκε ο ουδός κατά τη διάρκεια των χορηγήσεων επί 21 ημέρες καθώς και την 21^η ημέρα. Πιθανολογούμε ότι η ενδεχόμενη νευροπλαστικότητα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε το συμπεριφορικό φαινόμενο.

Όπως προαναφέραμε, υπάρχουν ευρήματα που υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγησή τυπικών αντιψυχωσικών όπως η αλοπεριδόλη οδηγεί σε ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής (Seeger et al., 1981; Seeger & Gardner, 1979). Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι δεν παρατηρείται κάτι ανάλογο έπειτα από τη χορήγηση αριπιπραζόλης. Το γεγονός αυτό πιθανώς σχετίζεται με το προφίλ μερικού αγωνιστή που έχει το φάρμακο και έτσι η επαναλαμβανόμενη αλλά «μερική» ρύθμιση της δραστηριότητας ενζύμων λειτούργησε προστατευτικά ώστε να μην αναπτυχθεί αντοχή στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου.

(v) **Σύνοψη επιδράσεων χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης.** Συνοψίζοντας, η χρόνια χορήγηση LiCl, καθώς και η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA οδήγησαν στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις των φαρμάκων. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση VPA και αριπιπραζόλης επέδειξαν σταθερή ανηδονική δράση (Βλ. παρακάτω ΠΙΝΑΚΑ Σ1. Το σύμβολο ↑ υποδεικνύει αύξηση

στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ενώ το σύμβολο – έλλειψη διαφορών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. $***p<0.001$, $**p<0.01$ σύγκριση ουδού ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού 21^{ης} ημέρας χορήγησης με την 1^η ημέρα χορήγησης της εκάστοτε ομάδας με βάση το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni).

Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν την πιθανή ύπαρξη νευρωνικής πλαστικότητας έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και τη χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA, ενώ εικάζουμε ότι η αντοχή που παρατηρήθηκε έπειτα από τη συγχορήγηση των δύο σταθεροποιητικών της διάθεσης, σχετίζεται με την αντοχή που αναπτύχθηκε στις δράσεις του LiCl και όχι του VPA όπου η δράση του φαίνεται να είναι σταθερή στο χρόνο, αναφορικά με τον υπό μελέτη ενδοφαινότυπο.

ΠΙΝΑΚΑΣ Σ1.
Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έπειτα από οξεία ή χρόνια χορήγηση

ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΤΗΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ
LiCl	↑	-
VPA	↑	↑
LiCl & VPA	↑	-
Αριπιπρασόλη	↑	↑

Αν και τα αποτελέσματα των χρόνιων χορηγήσεων φαίνονται εκ πρώτης όψεως μη αναμενόμενα, σε κάθε περίπτωση κρίνονται ιδιαίτερος ενδιαφέροντα και συνάδουν με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις της αλοπεριδόλης. Γι' αυτό και καθόρισαν την πορεία των περαιτέρω ερευνών μας. Για τη διαλεύκανση του υποκείμενου υποστρώματος, όπως προαναφέραμε, έγινε διερεύνηση αλλαγών νευρωνικής πλαστικότητας σε τρία επίπεδα: Πρώτον, σε επίπεδο ρύθμισης μεταγραφής γονιδίων, δεύτερον σε επίπεδο ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος και τρίτον στο επίπεδο της ρύθμισης διακίνησης AMPA και NMDA υποδοχέων στοχεύοντας στη μελέτη της υποκείμενης συναπτικής πλαστικότητας.

1.4. Επιδράσεις χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. (i) LiCl. Η χρόνια χορήγηση LiCl (100mg/kg, i.p.) δεν ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Το εύρημα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα των οξειών χορηγήσεων όπου η ίδια δόση LiCl (100mg/kg, i.p.) είχε αναστείλει τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης. Η μελέτη μετά τη χρόνια χορήγηση LiCl έδειξε την ανάπτυξη ανοχής στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου. Επιπλέον, όπως συζητήσαμε παραπάνω ο φαρμακολογικός ουδός ρύθμισης του κυκλώματος ανταμοιβής του LiCl και ο φαρμακολογικός ουδός άσκησης αντιμανιακών δράσεων ενδεχομένως ταυτίζονται. Γι' αυτό εικάζουμε ότι η αδυναμία της αναστολής των δράσεων της αμφεταμίνης σχετίζεται με την ανάπτυξη ανοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του φαρμάκου και τις υποκείμενες νευροπροσαρμογές.

Αν και κλινικά φαίνεται ότι μόνο η χρόνια⁴⁷ χορήγηση λιθίου είναι αποτελεσματική στην άμβλυνση των μανιακών συμπτωμάτων των ασθενών, τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγηση LiCl (100mg/kg, i.p.) δεν ανέστειλε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης στο φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας που χρησιμοποιήσαμε. Ωστόσο, σε κάθε περίπτωση πρέπει να επισημάνουμε ότι τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αναφέρονται σε ένα συγκεκριμένο ενδοφαινότυπο μανιακής συμπεριφοράς ενώ ο διαχωρισμός αυτός δύσκολα επιτυγχάνεται στην κλινική πράξη. Επιπροσθέτως, τα ευρήματά μας δεν θα πρέπει να θεωρήσουμε ότι έρχονται σε πλήρη αντίθεση με κλινικά δεδομένα. Πιθανή ύπαρξη αλλαγών στο φαρμακολογικό ουδό σχετίζεται με την αδυναμία αναστολής της προκαλούμενης από αμφεταμίνη αύξησης της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Έτσι μια ενδεχόμενη αύξηση της δόσης χορήγησης του φαρμάκου μπορεί να «ενίσχυε» τις αντιμανιακές του δράσεις στο συγκεκριμένο ενδοφαινότυπο.

Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί, ότι το πρωτόκολλο χρόνιων χορηγήσεων που ακολουθήθηκε στην παρούσα μελέτη (21 ημέρες) αντικατοπτρίζει μια πραγματικά χρόνια κατάσταση στον άνθρωπο, ενδεχομένως και δεκαετιών αν αναλογιστούμε το προσδόκιμο ζωής του εκάστοτε οργανισμού. Αντίθετα, οι αναφορές αποτελεσματικότητας έπειτα από χρόνια χορήγηση στην κλινική πράξη ουσιαστικά

⁴⁷ και όχι η οξεία χορήγησή του

αναφέρονται σε αποτελεσματικότητα της θεραπείας έπειτα από μερικές εβδομάδες ή μήνες και φυσικά θα πρέπει να λάβουμε υπόψη μας ότι κατά βάση στους ασθενείς αυτούς δεν χορηγείται μονοθεραπεία λιθίου αλλά και άλλες φαρμακευτικές αγωγές, οι οποίες μπορεί επίσης να λειτουργήσουν ως παρεμβαλλόμενες μεταβλητές στον συμπεριφορικό φαινότυπο.

(ii) VPA. Η χρόνια χορήγηση VPA δεν ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Ωστόσο, όπως προαναφέραμε, ούτε η οξεία χορήγησή του ανέστειλε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης γεγονός που ενδεχομένως σχετίζεται με τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του φαρμάκου κατά την καταθλιπτική φάση της διαταραχής, όπως έχει καταγραφεί από κλινικές μελέτες.

(iii) Συγχορήγηση LiCl και VPA. Η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA, αντίθετα από την οξεία χορήγησή τους, δεν ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η ανάπτυξη αντοχής στις ανηδονικές δράσεις της συγχορήγησής LiCl και VPA θεωρούμε ότι σχετίζεται με την αδυναμία που επέδειξε η χρόνια συγχορήγηση των δύο σταθεροποιητικών να αναστείλει τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης στο φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας που χρησιμοποιήσαμε. Έτσι, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη τα ζητήματα αναφορικά με τη μελέτη του συγκεκριμένου ενδοφαινότυπου, τη δόση και τη χρονιότητα της χορήγησης των φαρμάκων, τα οποία τέθηκαν παραπάνω στο κομμάτι της συζήτησης σχετικά με τις δράσεις της χρόνιας χορήγησης LiCl στο μοντέλο αυτό.

(iv) Αριπιπραζόλη. Σε αντίθεση με όλες τις προηγούμενες αντιμανιακές αγωγές που εξετάσαμε μετά από χρόνια χορήγηση, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Η σταθερή αντιμανιακή δράση της αριπιπραζόλης πιθανώς σχετίζεται με την σταθερή ανηδονική δράση που παρατηρήσαμε στη μελέτη της χρόνιας χορήγησής της και υποδηλώνει μια σταθερή ρύθμιση του κυκλώματος ανταμοιβής. Αυτή η δράση ενδεχομένως σχετίζεται με το φαρμακολογικό προφίλ του μερικού αγωνιστή που έχει η αριπιπραζόλη. Το γεγονός ότι δεν προκαλεί πλήρη αναστολή της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας, όπως συμβαίνει με τη χρόνια χορήγηση αλοπεριδόλης, προλαμβάνει την ανάπτυξη υπερευαισθησίας στο ντοπαμινεργικό κύκλωμα (Carvalho et al., 2009· Seeger et al., 1981· Seeger & Gardner, 1979) αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την αποτελεσματικότητά της. Τα

ευρήματα μας υποδεικνύουν την αριπιπραζόλη ως το πλέον αποτελεσματικό σταθεροποιητικό της διάθεσης για το συγκεκριμένο ενδοφαινότυπο μανιακής συμπεριφοράς.

(v) Σύνοψη επιδράσεων χρόνιων χορηγήσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Ανακεφαλαιώνοντας, έπειτα από χρόνια χορήγηση, μόνο η αριπιπραζόλη ανέστειλε την προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Αντίθετα από τις οξείες χορηγήσεις τους, η χρόνια χορήγηση LiCl καθώς και η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA δεν ανέστειλαν τις δράσεις της αμφεταμίνης, γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη ανοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl και της συγχορήγησης LiCl και VPA (Βλ. ΠΙΝΑΚΑ Σ2). Η υποκείμενη νευρωνική πλαστικότητα πιθανώς σχετίζεται με τις αλλαγές αυτές. Τέλος, ούτε η χρόνια χορήγηση VPA ανέστειλε τις δράσεις της αμφεταμίνης γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου φαρμάκου στην καταθλιπτική παρά στη μανιακή φάση της νόσου.

Όπως προαναφέραμε, πολλά ζητήματα θα πρέπει να ληφθούν υπόψη αναλογιζόμενοι τα αποτελέσματα αυτά. Κατ' αρχήν τα ευρήματά μας δεν έρχονται σε πλήρη αντίθεση με κλινικά δεδομένα. Μια βασική έρευνα σε πειραματόζωα είναι πλήρως ελεγχόμενη και αφορά ένα ομοιογενή πληθυσμό. Αντίθετα, στην κλινική πράξη υπάρχει μεγάλη ανομοιογένεια στον κλινικό πληθυσμό και πολλές παρεμβαλλόμενες και μη ελεγχόμενες μεταβλητές. Επιπλέον, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αναφέρονται σε ένα συγκεκριμένο ενδοφαινότυπο μανιακής συμπεριφοράς ενώ ο διαχωρισμός αυτός δύσκολα επιτυγχάνεται στην κλινική πράξη. Επιπροσθέτως, το πρωτόκολλο χρόνιων χορηγήσεων που ακολουθήθηκε στην παρούσα μελέτη⁴⁸ αντικατοπτρίζει μια πραγματικά χρόνια κατάσταση στον

⁴⁸ 21 ημέρες χορήγησης.

άνθρωπο.. Αντίθετα, οι αναφορές αποτελεσματικότητας στην κλινική πράξη μετά από χρόνια χορήγηση αναφέρονται σε αποτελεσματικότητα της θεραπείας έπειτα από μερικές εβδομάδες ή μήνες, ενώ στους ασθενείς αυτούς συνήθως δεν χορηγείται μονοθεραπεία λιθίου αλλά και άλλες φαρμακευτικές αγωγές οι οποίες μπορεί να λειτουργούν ως παρεμβαλλόμενες μεταβλητές στο συμπεριφορικό φαινόμενο. Τέλος, τα ευρήματά μας πιθανώς να αντικατοπτρίζουν απλά την ύπαρξη αλλαγών στο φαρμακολογικό ουδό και ενδεχόμενη αύξηση της δόσης χορήγησης των φαρμάκων να ενίσχυε περαιτέρω τις αντιμανιακές τους δράσεις στο συγκεκριμένο ενδοφαινόμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ Σ2.

Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης στην προκαλούμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού

ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΤΗΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ
Έκδοχο & Αμφεταμίνη	↓	↓
LiCl & Αμφεταμίνη	-	↓
VPA & Αμφεταμίνη	↓	↓
LiCl & VPA & Αμφεταμίνη	-	↓
Αριπιπραζόλη & Αμφεταμίνη	-	-

1.5. Σύνοψη συμπεριφορικών δεδομένων. Η παρούσα διδακτορική διατριβή έδειξε ότι η οξεία χορήγηση μικρών δόσεων σταθεροποιητικών της διάθεσης δεν επηρεάζει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Αντίθετα, η οξεία χορήγηση μεγάλων δόσεων LiCl, VPA, η οξεία συγχορήγηση LiCl και VPA ή η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης αυξάνει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού υποδηλώνοντας ανηδονικές δράσεις. Αν και μετά από οξεία χορήγηση όλα τα σταθεροποιητικά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή αύξησαν τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, μόνο το LiCl, η συγχορήγηση LiCl και VPA και η αριπιπραζόλη ανέστειλαν τις ενισχυτικές ιδιότητες της αμφεταμίνης. Αντίθετα, η οξεία χορήγηση VPA δεν επηρέασε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Καθώς τα δεδομένα μας φαίνεται να συσχετίζονται με κλινικά δεδομένα αναφορικά με την αποτελεσματικότητα του εκάστοτε σταθεροποιητικού

της διάθεσης, προτείνουμε ότι το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, σε συνδυασμό με την χορήγηση αμφεταμίνης μπορεί να είναι χρήσιμο για την μελέτη της έξαρσης, της ευφορίας και της αυξημένης ηδονικής ορμής που παρατηρείται στους διπολικούς ασθενείς και μπορεί να συμβάλει στην ταυτοποίηση νέων φαρμακοθεραπειών για τη ΔΔ.

Τα αποτελέσματα των χρόνιων χορηγήσεων υπέδειξαν την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl καθώς και της συγχορήγησης LiCl και VPA, ενώ αντίθετα η δράση της χρόνιας χορήγησης VPA και αριπιπραζόλης βρέθηκε σταθερή στο χρόνο. Η συμπεριφορική αντοχή που παρατηρήσαμε έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και τη χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA εικάζουμε ότι σχετίζεται με νευρωνική πλαστικότητα του κυκλώματος ανταμοιβής που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Επιπλέον, τα φάρμακα στα οποία αναπτύχθηκε συμπεριφορική αντοχή, σε αντίθεση με ότι συνέβη κατά την οξεία χορήγησή τους, δεν ανέστειλαν την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Τα ευρήματά αυτά υποδεικνύουν την ενδεχόμενη ύπαρξη ενός κοινού νευρωνικού υποστρώματος ρύθμισης του κυκλώματος ανταμοιβής το οποίο σχετίζεται τόσο με τις ανηδονικές δράσεις των ίδιων των φαρμάκων όσο και με τις αντιμανιακές τους δράσεις. Έτσι, η διαλεύκανση της νευρωνικής πλαστικότητας στο κύκλωμα ανταμοιβής έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl, σε σύγκριση με την οξεία χορήγησή του, ενδεχομένως μπορεί να μας υποδείξει κάποιους από τους αντιμανιακούς στόχους δράσης του. Για το σκοπό αυτό, στη συνέχεια των μελετών μας προχωρήσαμε στη μελέτη της νευρωνικής πλαστικότητας σε μείζονες περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως το κοιλιακό ραβδωτό και ο προμετωπιαίος φλοιός έπειτα από την οξεία και χρόνια χορήγηση του φαρμάκου.

Τέλος, τα ευρήματά των συμπεριφορικών μελετών μας υπέδειξαν ότι όπως συνέβη με την οξεία χορήγηση VPA έτσι και η χρόνια χορήγησή του δεν ανέστειλε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης, όπως συνέβη και με την οξεία χορήγησή της ανέστειλε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, υποδεικνύοντας το φάρμακο αυτό ως το πλέον αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση του μανιακού αυτού ενδοφαινότυπου.

2.1. Νευρωνική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό.

2.1.1. Πρώτο επίπεδο: Ρύθμιση γονιδιακής μεταγραφής - Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον προμετωπιαίο φλοιό. Ο μεταγραφικός παράγοντας CREB εμπλέκεται στη ρύθμιση ποικίλων διεργασιών συμπεριλαμβανομένης της συναπτικής και νευρωνικής πλαστικότητας και για το λόγο αυτό κρίθηκε σημαντική η μελέτη των επιδράσεων της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενεργοποίησή του. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης δεν επηρέασε τη φωσφορυλίωση του CREB (p-Ser¹³³-CREB) στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωσή του στον προμετωπιαίο φλοιό. Η αποφωσφορυλίωση του CREB στη Ser¹³³ μπορεί να ρυθμιστεί μέσω της PP1 και PP2A οδηγώντας σε καταστολή της μεταγραφής γονιδίων (Sakamoto et al., 2011· Gasic et al., 2006). Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης μπορεί να καταστείλει μεταγραφικές διεργασίες στη σημαντική για τη ρύθμιση πολλών πτυχών της συμπεριφοράς και του συναισθήματος περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού.

Τα ευρήματά μας συμφωνούν με προγενέστερες μελέτες που υποδεικνύουν μείωση της φωσφορυλίωσης του CREB έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl στην περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού (Tardito et al., 2007). Ωστόσο, η επίδραση του LiCl στη φωσφορυλίωση του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό φαίνεται ότι εξαρτάται από τις συνθήκες καθώς έχει βρεθεί αυξημένη ενεργοποίηση του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό σ' ένα μοντέλο υποξίας (Omata et al., 2008).

Επιπρόσθετες μελέτες υποδεικνύουν μείωση της έκφρασης γονιδίων επαγόμενη από τον CREB καθώς και μείωση της φωσφορυλίωσής του έπειτα από τη χρόνια αλλά όχι την οξεία χορήγηση LiCl στο φλοιό, τον ιππόκαμπο, τον υποθάλαμο καθώς και το ραβδωτό (Böer et al., 2008). Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τα αποτελέσματα της δικιάς μας μελέτης που υποδεικνύουν ότι το LiCl ρυθμίζει τη φωσφορυλίωση του CREB έπειτα από χρόνια αλλά όχι έπειτα από την οξεία χορήγησή του. Η αναστολή της γονιδιακής μεταγραφής που παρατηρήθηκε στη μελέτη των Böer και συνεργατών (2008) βρέθηκε να είναι σε όλο τον εγκέφαλο αλλά εντονότερη στον ιππόκαμπο, τον υποθάλαμο και φλοιϊκές περιοχές, υποδεικνύοντας ότι η δραστηριότητα του CREB επηρεάζεται από το λίθιο περισσότερο σε περιοχές

που εμπλέκονται στο συναίσθημα και την κινητοποίηση. Η μελέτη αυτή υπέδειξε για πρώτη φορά *in vivo* ρύθμιση της επαγόμενης από τον CREB έκφρασης γονιδίων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση λιθίου, η οποία πιθανώς αποτελεί σημαντικό διαμεσολαβητή της επαγόμενης από το λίθιο νευρωνικής πλαστικότητας (Böer et al., 2008).

Άλλες μελέτες με cDNA μικροσυστοιχίες (microarrays) έδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου οδηγεί στη μείωση της έκφρασης 50 γονιδίων, ενώ κανενός γονιδίου η έκφραση δεν φάνηκε να αυξήθηκε. Τα γονίδια στα οποία βρέθηκε μείωση κωδικεύουν υποδοχείς, πρωτεϊνικές κινάσες, μεταγραφικούς και μεταφραστικούς παράγοντες, δείκτες ενεργειακού μεταβολισμού και ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος. Έτσι, η χρόνια χορήγηση λιθίου, σε θεραπευτικές συγκεντρώσεις, φαίνεται ότι μειώνει την έκφραση μεγάλου αριθμού γονιδίων που εμπλέκονται σε ποικίλα ενδοκυττάρια μονοπάτια (Bosetti et al., 2002).

Επιπλέον, μεταθανάτιες μελέτες σε διπολικούς ασθενείς που αυτοκτόνησαν έδειξαν αυξημένα επίπεδα φωσφορυλίωσης του CREB στην αμυγδαλή, ενώ ασθενείς οι οποίοι βρίσκονταν σε θεραπεία με λίθιο παρουσίαζαν σημαντική μείωση της φωσφορυλίωσης του CREB (Young et al., 2004).

Ωστόσο, στη βιβλιογραφία εντοπίζονται και αντίθετα ευρήματα ως προς τη φωσφορυλίωση του CREB. Πιο συγκεκριμένα, στην περιοχή του ιπποκάμπου έχει βρεθεί αυξημένη φωσφορυλίωση του CREB έπειτα από τη χρόνια χορήγηση ανθρακικού λιθίου. Ο CREB είναι σημαντικός για την έκφραση νευροτροφικών παραγόντων συμπεριλαμβανομένου του BDNF, ο οποίος εμπλέκεται στην έκφραση της νευρωνικής πλαστικότητας στον ιπποκάμπο (Hammonds & Shim, 2009). Επιπλέον, το γεγονός αυτό έχει συσχετιστεί με την θεραπευτική δράση των αντικαταθλιπτικών. Η φωσφορυλίωση του CREB στη Ser¹³³ επάγεται από την PKA. Έτσι, τα ευρήματα αυτά θα πρέπει να ερμηνευθούν με βάση το ότι το λίθιο διεγείρει τα βασικά επίπεδα ενώ καταστέλλει τα επαγόμενα από ερέθισμα επίπεδα κυκλικού AMP και PKA. Η διφασική αυτή δράση του λιθίου έχει υποστηριχθεί ότι διαμεσολαβεί για τις αντικαταθλιπτικές και αντιμανιακές του δράσεις (Liang et al., 2008).

Αναφορικά με την αριπιπραζόλη φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σχετικές αναφορές στη βιβλιογραφία. Μελέτες σε καλλιέργειες νευρώνων έχουν δείξει ότι η ενεργοποίηση των D₂ υποδοχέων οδηγεί σε αύξηση της φωσφορυλίωσης του CREB (Yan et al., 1999), ενώ άλλες παλαιότερες μελέτες σε καλλιέργειες νευρώνων

ιππόκαμπου έδειξαν επίσης αυξημένη φωσφορυλίωση του CREB έπειτα από τη χορήγηση αλοπεριδόλης (Yang et al., 2004). Μια πρόσφατη έρευνα σε SH-SY5Y κύτταρα έδειξε ότι η αλοπεριδόλη δεν επηρεάζει τη φωσφορυλίωση του CREB (Park et al., 2011). Το εύρημα αυτό φαίνεται να συμφωνεί με τα ευρήματα της δικιάς μας μελέτης, σύμφωνα με την οποία η αριπιπραζόλη δεν επηρεάζει την ενεργοποίηση του CREB. Ωστόσο, σε κάθε περίπτωση πιστεύουμε ότι η αδυναμία της αριπιπραζόλης για ουσιαστική ρύθμιση της ενεργοποίησης του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό, σχετίζεται με τη «μερική» ρύθμιση που ασκεί στα εμπλεκόμενα ένζυμα.

Ολοκληρώνοντας το κεφάλαιο των επιδράσεων της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό, θα πρέπει να σημειώσουμε ότι τα συνολικά επίπεδα της πρωτεΐνης CREB δεν επηρεάστηκαν από τη χορήγηση κανενός εκ των δύο σταθεροποιητικών σε καμία από τις πειραματικές μας συνθήκες.

Σε κάθε περίπτωση, αξιολογώντας τη σημασία των αποτελεσμάτων μας, θα πρέπει να αναφερθούμε στη συμβολή του προμετωπιαίου φλοιού στη συμπεριφορά. Ο μετωπιαίος πόλος έχει υποστηριχθεί ότι σχετίζεται με δυσλειτουργίες στην ενίσχυση και τη μνήμη εργασίας που παρατηρούνται στη ΔΔ (Jogia et al., 2011). Νευροαπεικονιστικές μελέτες υποδεικνύουν δυσλειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού στη ΔΔ (Foland-Ross et al., 2011; Frangou et al., 2008). Πιο συγκεκριμένα έχει δειχθεί μειωμένη ενεργοποίηση του κοιλιακού έξω προμετωπιαίου φλοιού σε ευθυμικούς διπολικούς ασθενείς (Foland-Ross et al., 2011) καθώς και μειωμένη ανασταλτική ρύθμιση της αμυγδαλής από τον προμετωπιαίο φλοιό στη διπολική μανία (Foland et al., 2008). Τα παραπάνω μπορεί να συμβάλουν στη συναισθηματική δυσλειτουργία που παρατηρείται στη ΔΔ (Strakowski et al., 2011). Ο μετωπιαίος φλοιός σχετίζεται επιπλέον με την κατευθυνόμενη από ενισχυτές μάθηση και τη λήψη αποφάσεων όπως για παράδειγμα σε συσχετισμούς με ενισχυτές, επιλογή ενισχυτών-στόχων, επιλογή λήψης ενισχυτή και έλεγχο της πιθανής αξίας εναλλακτικών τρόπων δράσης (Rushworth et al., 2011). Στο πλαίσιο αυτό, τα ευρήματά μας αναφορικά με την καταστολή της γονιδιακής ρύθμισης, η οποία φαίνεται ότι μπορεί να εμπλέκει και τη ρύθμιση ποικίλων ενδοκυττάρων μονοπατιών, υποδεικνύουν ότι οι μηχανισμοί ενίσχυσης που ρυθμίζονται άμεσα και έμμεσα από τον προμετωπιαίο φλοιό επηρεάζονται από τη χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης. Όπως θα δούμε αναλυτικότερα παρακάτω πιστεύουμε ότι η καταστολή της γονιδιακής ρύθμισης στον προμετωπιαίο φλοιό σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις

ανηδονικές δράσεις του LiCl που παρατηρήσαμε έπειτα από την χρόνια χορήγησή του.

2.1.2. Δεύτερο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό - Δραστηκότητα κινασών.

(i) **PKA.** Όπως προαναφέραμε, το λίθιο έχει δείχθει ότι ασκεί σημαντικές επιδράσεις στο ενδοκυττάριο μονοπάτι της αδενυλικής κυκλάσης, το οποίο διαμεσολαβεί για τις δράσεις μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών (Liang et al., 2008· Marmol, 2008). Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, ελέγξαμε τη δραστηκότητα της PKA μελετώντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη θέση Ser⁸⁴⁵ (p-Ser⁸⁴⁵-GluR1) και της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη θέση Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁷-NR1). Και οι δύο αυτές θέσεις φωσφορυλίωσης είναι εκλεκτικές για την PKA.

Η οξεία χορήγηση των δύο σταθεροποιητικών δεν επηρέασε σημαντικά την δραστηκότητα της PKA στον προμετωπιαίο φλοιό όπως υποδεικνύεται από τη μελέτη τόσο της p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 όσο και της p-Ser⁸⁹⁷-NR1. Αντίθετα, η δραστηκότητα της PKA βρέθηκε σημαντικά μειωμένη έπειτα από τη χρόνια χορήγηση τόσο LiCl όσο και αριπιπραζόλης, καθώς τόσο η p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 όσο και η p-Ser⁸⁹⁷-NR1 βρέθηκαν σημαντικά μειωμένες μετά τη χρόνια χορήγηση των δύο φαρμάκων ενώ δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τις συνολικές πρωτεΐνες GluR1 και NR1 έπειτα από οξεία και χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η επίδραση της χρόνιας χορήγησης LiCl στην δραστηκότητα της PKA φαίνεται να είναι μεγαλύτερη σε σχέση με την επίδραση της αριπιπραζόλης και το γεγονός αυτό πιθανώς σχετίζεται με το προφίλ μερικού αγωνιστή της αριπιπραζόλης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν μείωση της ενδοκυττάριας διαβίβασης του μονοπατιού της PKA έπειτα από χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης.

Σύμφωνα με προγενέστερες μελέτες το λίθιο αναστέλλει τη φωσφορυλίωση ποικίλων υποστρωμάτων στο μονοπάτι του κυκλικού AMP (Mori et al., 1996). Μελέτες έχουν δείξει ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου μειώνει τη δραστηκότητα της PKA στο φλοιό (Jensen & Mørk, 1997) και τον υπόκαμπο (Du et al., 2007· Du et al., 2004b· Jensen & Mørk, 1997) όπως υποδηλώνεται από τη μείωση της φωσφορυλίωσης της GluR1 στην PKA θέση την Ser⁸⁴⁵. Αντίθετα, η οξεία χορήγηση

λιθίου φαίνεται ότι δεν επηρεάζει τη φωσφορυλίωση της GluR1 στη Ser⁸⁴⁵ (Du et al., 2007· Du et al., 2004b). Τα ευρήματα των μελετών μας φαίνεται να συμφωνούν με τα δεδομένα των μελετών αυτών καθώς και με ευρήματα από μελέτες *in vivo* εγκεφαλικής μικροδιαπίδυσης που παρουσιάζουν μείωση στην απελευθέρωση ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό επίμυων έπειτα από τη χρόνια αλλά όχι την οξεία χορήγηση λιθίου (Bartista et al., 1993).

Αναφορικά με την αριπιπραζόλη έχειδειχθεί ότι ενεργοποιεί τη διαμεσολαβούμενη από τους D₂ υποδοχείς αναστολή της συσσώρευσης κυκλικού AMP, ενώ η σταδιακή αύξηση της δόσης της αναστέλλει τις δράσεις της ντοπαμίνης, γεγονός που συνάδει με το προφίλ της ως μερικός αγωνιστής (Burris et al., 2002). Σε γενικές γραμμές, οι μερικοί αγωνιστές των D₂ υποδοχέων δρουν ως αγωνιστές των προσυναπτικών D₂ υποδοχέων αλλά ως ανταγωνιστές των μετασυναπτικών υποδοχέων (Hirose & Kikuchi, 2005). Έτσι, με βάση το φαρμακολογικό προφίλ της αριπιπραζόλης θα αναμέναμε ότι θα ανέστειλε τη δραστηριότητα της PKA σε μεγάλες δόσεις.

Όπως θα δούμε αναλυτικότερα παρακάτω (βλ. Συναπτική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό), η αριπιπραζόλη έχειδειχθεί ότι μειώνει την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος στον προμετωπιαίο φλοιό. Η δράση της αυτή φαίνεται ότι διαμεσολαβείται από τη δραστηριότητα της PKA καθώς η προχορήγηση του αναστολέα της δραστηριότητας της PKA H89 ανέστειλε τις δράσεις της αριπιπραζόλης στη γλουταμινεργική απελευθέρωση (Yang & Wang, 2008). Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με τα δεδομένα της μελέτης μας, που υποδεικνύουν ρύθμιση της PKA από την αριπιπραζόλη.

Ποικίλα ερευνητικά δεδομένα στηρίζουν την ύπαρξη ανωμαλιών στο μονοπάτι του κυκλικού AMP στη ΔΔ (Karege et al., 2004· Chang et al., 2003a· Bezchlibnyk & Young, 2002· Stewart et al., 2001). Ειδικότερα έχει υποστηριχθεί ότι υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού και σε μετωπιαίες φλοιϊκές περιοχές (Chang et al., 2003b). Μεταθανάτιες μελέτες σε εγκεφάλους ασθενών με ΔΔ υποστηρίζουν ότι υπάρχουν αυξημένα επίπεδα Ga_s, που έχουν ως συνέπεια την αυξημένη διέγερση του ενζύμου αδενυλική κυκλάση (Andreopoulos et al., 2003· Dowlatshahi et al., 1999· Manji et al., 1995· Young et al., 1993). Έτσι, η αναστολή του μονοπατιού της PKA από τα σταθεροποιητικά της διάθεσης μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις στην ομαλοποίηση της διαβίβασης σήματος στο μονοπάτι αυτό και ενδεχομένως να συμβάλλει στη θεραπευτική αντιμετώπιση πτυχών της ΔΔ.

(ii) **PKC**. Πολλά είναι τα δεδομένα που εμπλέκουν το ενδοκυττάριο μονοπάτι των φωσφολιπιδίων στη ΔΔ ενώ η μανία έχει συσχετιστεί με υπερδραστικότητα του ενζύμου PKC (Ali et al., 2010· Zarate & Manji, 2009· Hahn et al., 2005· Hahn & Friedman, 1999· Wang et al., 1999· Iwata et al., 1997a· 1997b· Wang & Friedman, 1996· Friedman et al., 1993). Για το λόγο αυτό το ένζυμο αυτό αποτέλεσε έναν από τους στόχους της έρευνάς μας. Η μελέτη της δραστηριότητας της PKC έγινε κυρίως μελετώντας τη φωσφορυλίωση στην εκλεκτική για την PKC θέση στην NR1 υπομονάδα των NMDA υποδοχέων, τη Ser⁸⁹⁶ (p-Ser⁸⁹⁶-NR1). Επιπροσθέτως, μελετήθηκαν και οι θέσεις Ser¹³⁰³ της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων (p-Ser¹³⁰³-NR2B) και Ser⁸³¹ της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων (p-Ser⁸³¹-GluR1), οι οποίες ωστόσο αποτελούν και θέσεις φωσφορυλίωσης της CaMKII.

Τα αποτελέσματα των μελετών ανοσοαποτύπωσης που πραγματοποιήσαμε υποδηλώνουν μικρή μείωση της φωσφορυλίωσης της p-Ser⁸⁹⁶-NR1 έπειτα από την οξεία χορήγηση LiCl, η οποία ωστόσο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Παρόμοιες τάσεις, αν και μικρότερες παρουσιάζονται στις p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Ser⁸³¹-GluR1, υποδηλώνοντας ότι η οξεία χορήγηση LiCl δεν επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τη δραστηριότητα της PKC. Επιπροσθέτως, η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά καμία από αυτές τις φωσφορυλίωσεις (p-Ser⁸⁹⁶-NR1, p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Ser⁸³¹-GluR1), υποδηλώνοντας ότι ούτε η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης επηρεάζει τη δραστηριότητα της PKC.

Αναφορικά με τις χρόνιες χορηγήσεις, το LiCl μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ της NR1 υπομονάδας, ενώ μείωσε σημαντικά και τη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ της NR2B υπομονάδας. Ωστόσο, αν και υπήρξε τάση μείωσης της φωσφορυλίωσης της Ser⁸³¹ της GluR1, η τάση αυτή δε βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Η θέση αυτή όπως προαναφέραμε δεν είναι εκλεκτική για την PKC αλλά αποτελεί και θέση φωσφορυλίωσης για την CamKII. Έτσι, λόγω της μη εκλεκτικότητας μόνο για την PKC πιστεύουμε ότι αυτό δεν αποτελεί εύρημα που να αντικρούει τη ρύθμιση της δραστηριότητας του ενζύμου από το LiCl. Επιπροσθέτως, ενδεχόμενες αλλαγές στη στερεοδιαμόρφωση του AMPA υποδοχέα μπορεί να άλλαξαν την συγγένεια του ενζύμου με το υπόστρωμά του. Σε κάθε περίπτωση, τα δεδομένα μας στηρίζουν την υπόθεση ότι η χρόνια χορήγηση LiCl αναστέλλει τη δραστηριότητα της PKC.

Η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε τη p-Ser⁸⁹⁶-NR1 ή p-Ser⁸³¹-GluR1. Αντίθετα, μείωσε τη φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ της NR2B υπομονάδας.

Καθώς η θέση αυτή δεν είναι εκλεκτική για την PKC και αντίθετα η εκλεκτική θέση μόνο για το ένζυμο αυτό (p-Ser⁸⁹⁶-NR1) δεν επηρεάστηκε, τα δεδομένα μας υποστηρίζουν ότι η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρεάζει τη δραστηριότητα της PKC στον προμετωπιαίο φλοιό. Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι τόσο η οξεία όσο και η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασαν τα επίπεδα των συνολικών πρωτεϊνών NR1 και NR2B.

Υπάρχουν νευροχημικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι η δραστηριότητα της PKC μπορεί να αποτελεί έναν από τους αντιμανιακούς στόχους δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης καθώς η υπερβολική ενεργοποίησή της μπορεί να διαταράξει τη συμπεριφορά. Προγενέστερες μελέτες υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου αναστέλλει τη δραστηριότητα της PKC (Szabo et al., 2009; Jensen & Mørk, 1997). Έχει δειχθεί ότι η υπο-χρόνια χορήγηση αμφεταμίνης αυξάνει την δραστηριότητα της PKC στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση λιθίου αναστέλλει την ενεργοποίηση της PKC καθώς έχει βρεθεί μειωμένη φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων της όπως της Ser⁸⁹⁶ στην NR1 υπομονάδα του NMDA υποδοχέα (Szabo et al., 2009). Τα δεδομένα μας συνάδουν με τα δεδομένα των μελετών αυτών που στηρίζουν την ανασταλτική επίδραση του λιθίου στη δραστηριότητα της PKC έπειτα από χρόνια χορήγηση.

Αλλαγές στη δραστηριότητα διάφορων ισομορφών της PKC έχουν βρεθεί και σε αιμοπετάλια διπολικών ασθενών (Pandey et al., 2008; 2002). Σε σύγκριση με υγιή υποκείμενα αλλά και καταθλιπτικούς διπολικούς ασθενείς και σχιζοφρενείς η δραστηριότητα της PKC έχει βρεθεί αυξημένη σε μανιακούς ασθενείς, ενώ επιπρόσθετες μεταθανάτιες μελέτες σε εγκεφάλους ασθενών με ΔΔ υποδεικνύουν αυξημένη μετατόπιση της PKC στη μεμβράνη στην περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού (Hahn & Friedman, 1999). Έτσι, φαίνεται ότι η δραστηριότητα της PKC μπορεί να εμπλέκεται στη σχετιζόμενη με την εμπλοκή του προμετωπιαίου φλοιού συμπτωματολογία της ΔΔ.

Ωστόσο, τα ευρήματα των μελετών μας δε φαίνεται να σχετίζουν τη δραστηριότητα της PKC στον προμετωπιαίο φλοιό με τις ανηδονικές και αντιμανιακές δράσεις της αριπιπραζόλης στο συμπεριφορικό πρότυπο που μελετήσαμε. Πιο συγκεκριμένα, τόσο η οξεία όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης αν και δεν επηρέασε σημαντικά τη δραστηριότητα της PKC, αύξησε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και ανέστειλε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Φυσικά τα ευρήματα αυτά θα πρέπει να ερμηνευθούν

με προσοχή καθώς τα μοριακά μας δεδομένα αναφορικά με τη δραστικότητα της PKC έγιναν σε βασικές συνθήκες και απουσία διαταραγμένης ομοιόστασης του κυκλώματος όπως συμβαίνει στη ΔΔ αλλά και στο συμπεριφορικό φαρμακοεπαγόμενο μοντέλο μανίας που χρησιμοποιήσαμε. Έτσι, αποτελούν μόνο ένδειξη έλλειψης συσχέτισης μεταξύ των ανηδονικών δράσεων της αριπιπραζόλης και της δραστικότητας της PKC. Ακόμα, η σημασία των συνθηκών θα πρέπει να τονιστεί για τον επιπρόσθετο λόγο ότι η αναφορά γίνεται για ένα φάρμακο που ανάλογα με τη διαθεσιμότητα νευροδιαβιβαστών ρυθμίζει τη δραστικότητα των ενζύμων. Υπό το πρίσμα αυτό, τα δεδομένα μας δεν μπορούν να αποκλείσουν την εμπλοκή της PKC στην άσκηση των αντιμανιακών δράσεων της αριπιπραζόλης.

Αντίθετα, η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του λιθίου μπορεί να σχετίζεται και με τη μείωση της δραστικότητας της PKC στον προμετωπιαίο φλοιό. Καθώς γνωρίζουμε ότι η PKC κατέχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της νευρωνικής διεγερσιμότητας, την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, τις μακροχρόνιες αλλαγές που σχετίζονται με την έκφραση γονιδίων και την ευρύτερη νευρωνική πλαστικότητα (Szabo et al., 2009; Zarate & Manji, 2009), η προς τα κάτω ρύθμισή της έπειτα από χρόνια χορήγηση λιθίου μπορεί να έχει ως αντίκτυπο την ανάπτυξη αντοχής στις δράσεις του λιθίου στο συμπεριφορικό ενδοφαινότυπο που μελετήσαμε. Στον αντίποδα, ο συσχετισμός των συμπεριφορικών και μοριακών μας δεδομένων όπως θα δούμε αναλυτικά στη συνέχεια (Βλ. Γενική συζήτηση), δε φαίνεται να εμπλέκει στις αντιμανιακές δράσεις του λιθίου τη δραστικότητα της PKC.

(iii) CaMKII. Η δραστικότητα της CaMKII έχει επίσης εμπλακεί στην παθοφυσιολογία της ΔΔ, ενώ ο σημαντικός της ρόλος στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας την καθιστά ενδιαφέρων στόχο στη μελέτη διαταραχών που εμπλέκουν ελλείμματα σε επίπεδο πλαστικότητας του ΚΝΣ. Η μελέτη της δραστικότητας της CaMKII έγινε μελετώντας την p-Ser⁸³¹-GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων και την p-Ser¹³⁰³-NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων. Όπως προαναφέραμε, οι θέσεις αυτές αποτελούν θέσεις φωσφορυλίωσης τόσο για την CaMKII όσο και για την PKC και άρα δεν είναι εκλεκτικές. Έτσι, τα ευρήματα σχετικά με τη δραστικότητα της CaMKII θα πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή.

Η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε τα επίπεδα της p-Ser⁸³¹-GluR1 ή της p-Ser¹³⁰³-NR2B. Επιπροσθέτως, η χρόνια χορήγηση των σταθεροποιητικών δεν επηρέασε την p-Ser⁸³¹-GluR1 παρ' όλο που το χρόνιο LiCl

επέδειξε έντονη τάση μείωσης της φωσφορυλίωσης αυτής. Αντίθετα, η p-Ser¹³⁰³-NR2B μειώθηκε σημαντικά έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl ή αριπιπραζόλης. Καθώς η αριπιπραζόλη δε βρέθηκε να επηρεάζει τη δραστικότητα της PKC⁴⁹, η μείωση της φωσφορυλίωσης της Ser¹³⁰³ στην NR2B υπομονάδα θεωρούμε ότι σχετίζεται με μειωμένη δραστικότητα της CaMKII. Επιπλέον, τα δεδομένα μας δεν αντικρούουν το ενδεχόμενο ρύθμισης της CaMKII από το LiCl. Ωστόσο, απαιτούνται μελλοντικές έρευνες πιο εκλεκτικών θέσεων φωσφορυλίωσης για την ακριβή διαλεύκανση των επιδράσεων της χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη δραστηριότητα της CaMKII.

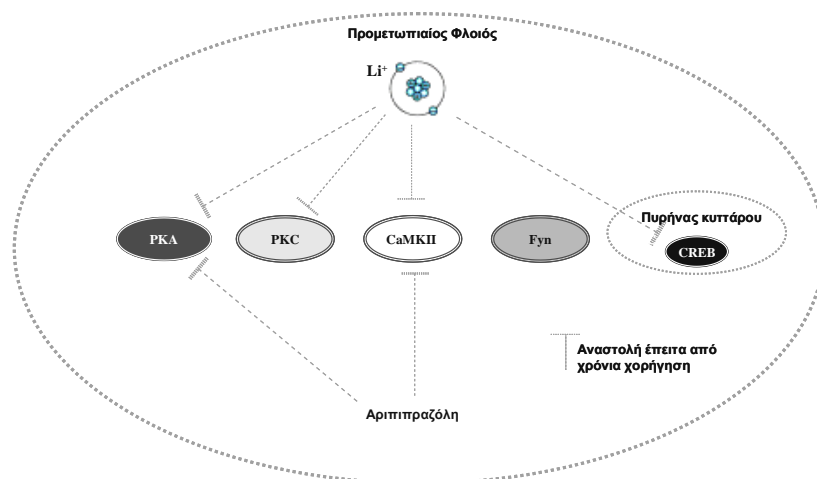
Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου μειώνει τη δραστικότητα της CaMKII στον προμετωπιαίο φλοιό (Celano et al., 2003), γεγονός που συνάδει με τα δικά μας ευρήματα. Ωστόσο, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές για τις επιδράσεις της αριπιπραζόλης στην CaMKII. Σχετικές μελέτες με άλλα αντιψυχωσικά έχουν δείξει ότι η χρόνια χορήγηση αλοπεριδόλης δεν επηρεάζει τη δραστικότητα της CaMKII στον προμετωπιαίο φλοιό (Celano et al., 2003), ενώ η επαναλαμβανόμενη χορήγηση αλοπεριδόλης, κλοζαπίνης ή ρισπεριδόνης έχει δείξει ότι μειώνει τα επίπεδα CaMKII στο ραβδωτό (Rushlow et al., 2009).

Δεδομένα από μελέτες σε διπολικούς ασθενείς υποδεικνύουν μειωμένα επίπεδα του mRNA της CaMKIIα στον προμετωπιαίο φλοιό διπολικών ασθενών γεγονός που έχει συσχετιστεί με τις συναισθηματικές και γνωσιακές αλλαγές που παρατηρούνται στη διαταραχή (Molnar et al., 2003· Xing et al., 2002). Αντίθετα, αυξημένη έκφραση της CaMKIIα και CaMKIIβ έχει βρεθεί στο φλοιό σε καταθλιπτικούς ασθενείς (Novak et al., 2006). Αναλογιζόμενοι τον κεντρικό ρόλο που κατέχει η CaMKII στη συναπτική πλαστικότητα καθώς και τα δεδομένα που στηρίζουν την υπόθεση της δομικής και λειτουργικής πλαστικότητας των συναισθηματικών διαταραχών (Szabo et al., 2009· Quiroz et al., 2008· Schloesser et al., 2008· Du et al., 2004) ο ρόλος της CaMKII στη ΔΔ και στις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Σε κάθε περίπτωση, αν και τα δεδομένα μας αναφορικά με την εμπλοκή της CaMKII στις θεραπευτικές δράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης και ιδίως της αριπιπραζόλης μπορούν να

⁴⁹ με βάση της μελέτης της εκλεκτικής θέσης φωσφορυλίωσης της PKC, τη Ser⁸⁹⁶ στην NR1 υπομονάδα των NMDA υποδοχέων.

θεωρηθούν ως προκαταρτικά, αποτελούν μια επιπλέον ένδειξη ύπαρξης πολλαπλών αλλαγών σε επίπεδο νευρωνικής πλαστικότητας.

(iv) **Fyn.** Η κινάση της τυρονίνης μη-υποδοχέας Fyn κατέχει σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα και την LTP (Grant et al., 1992) ενώ συσχετιστικές μελέτες εμπλέκουν πολυμορφισμούς στο γονίδιο *fyn* με τη ΔΔ και την αποτελεσματικότητα του λιθίου (Szczepankiewicz et al., 2009a·2009b). Για το λόγο αυτό μελετήσαμε τη δραστηριότητα της κινάσης αυτής έπειτα από την οξεία και χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Η μελέτη της δραστηριότητας της Fyn έγινε μελετώντας την εκλεκτική θέση φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων την Tyr¹⁴⁷². Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι τόσο η οξεία όσο και η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷². Ωστόσο, θα πρέπει να σημειώσουμε ότι παρατηρήθηκε τάση μείωσης της δραστηριότητας της Fyn έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl, αλλά η δράση αυτή δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι το LiCl μειώνει τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² σε καλλιέργειες φλοιϊκών νευρώνων (Hashimoto et al., 2003· 2002) ενώ δεν υπάρχουν ανάλογα δεδομένα για τις επιδράσεις της αριπιπραζόλης στη δραστηριότητα της Fyn.



ΣΧΗΜΑ Σ1. Επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στον προμετωπιαίο φλοιό. Οι οξείες χορηγήσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης δεν επηρέασαν στατιστικά σημαντικά τη δραστηριότητα των PKA, PKC, CaMKII και Fyn κινασών ή την ενεργοποίηση του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση LiCl, μείωσε τη δραστηριότητα των PKA, PKC και CaMKII καθώς και την ενεργοποίηση του CREB ενώ επέδειξε τάση μείωσης της δραστηριότητας της Fyn, η οποία ωστόσο δε βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Η χρόνια

χορήγηση αριπιπραζόλης ανέστειλε τη σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού της PKA ενώ δεν επηρέασε τη δραστηριότητα των PKC και Fyn ή την ενεργοποίηση του CREB. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις για μείωση της δραστηριότητας της CaMKII έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης.

2.1.3. Τρίτο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη συναπτική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό.

(i) Διακίνηση NMDA υποδοχέων. Οι NMDA υποδοχείς παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας συμπεριλαμβανομένης της διακίνησης των AMPA υποδοχέων (Du et al., 2004) και για το λόγο αυτό μπορεί να αποτελούν σημαντικό ρυθμιστή της υποκείμενης πλαστικότητας έπειτα από την χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης. Η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στις θέσεις Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁶-NR1 και p-Ser⁸⁹⁷-NR1) αλλά ούτε και τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στις θέσεις Ser¹³⁰³ και Tyr¹⁴⁷² (p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B).

Η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε την επαγόμενη από την PKA φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στη θέση Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁷-NR1), ενώ μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε σημαντικά την επαγόμενη από την PKC φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στη θέση Ser⁸⁹⁶ (p-Ser⁸⁹⁶-NR1). Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης επέδειξε τάση μείωσης της p-Ser⁸⁹⁶-NR1 η οποία όμως δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Η φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στις Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ άγει την διακίνηση των NMDA υποδοχέων στην πλασματική μεμβράνη (Lau & Zukin, 2007). Μείωση των φωσφορυλίωσεων αυτών αναστέλλει τη διακίνηση των νέων NMDA υποδοχέων, αναστέλλοντας την ένθεση τους στην πλασματική μεμβράνη.

Επιπροσθέτως, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε την επαγόμενη από τις PKC και CaMKII φωσφορυλίωση της NR2B στη Ser¹³⁰³ (p-Ser¹³⁰³-NR2B). Η φωσφορυλίωση της θέσης αυτής της NR2B υπομονάδας διευκολύνει τα ρεύματα μέσω NMDA υποδοχέων και φαίνεται ότι διαμεσολαβεί για την LTP και κατ' επέκταση η μείωση της φωσφορυλίωσης αυτής μπορεί να συμβάλει σε μια αντίθετη κατάσταση. Παρ' όλα αυτά, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της NR2B στην Tyr¹⁴⁷²

(p- Tyr¹⁴⁷²- NR2B), η μείωση της οποίας σχετίζεται με την ενδοκυττάρωση των NMDA υποδοχέων. Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι η χρόνια χορήγηση LiCl παρουσίασε τάση μείωσης για τη φωσφορυλίωση αυτή, αλλά η συγκεκριμένη δράση δε βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική.

Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι το λίθιο ασκεί νευροπροστατευτικές δράσεις αναστέλλοντας τα ρεύματα των NMDA υποδοχέων (Chuang et al., 2011). Η χρόνια χορήγηση λιθίου έχει δείχθει ότι αναστέλλει την δραστικότητα της PKC και κατ' επέκταση τη φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων της (Zarate & Manji, 2009) συμπεριλαμβανομένου του NMDA υποδοχέα. Τα αποτελέσματά μας είναι συνεπή με προγενέστερες μελέτες που υποδεικνύουν μειωμένη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁹⁶ στην NR1 υπομονάδα από την PKC (Szabo et al., 2009). Επιπροσθέτως, άλλες μελέτες έδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου, αν και επηρεάζει μεταγραφικές διεργασίες δεν επηρεάζει τα επίπεδα των συνολικών πρωτεϊνών NR1 και NR2B (Hashimoto et al., 2002), εύρημα που συμφωνεί και με τα δικά μας δεδομένα. Επιπλέον, έχει δείχθει μείωση της φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας Tyr¹⁴⁷² σε καλλιέργειες φλοιϊκών νευρώνων (Hashimoto et al., 2003· 2002), ενώ και τα δικά μας δεδομένα υποδεικνύουν μια τέτοια τάση η οποία όμως δεν βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Τα αποτελέσματά μας είναι συνεπή με προγενέστερες μελέτες που υποδεικνύουν μείωση των ρευμάτων μέσω NMDA υποδοχέων ενώ μας παρέχουν νέες πληροφορίες αναφορικά με τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων από και προς τη σύναψη.

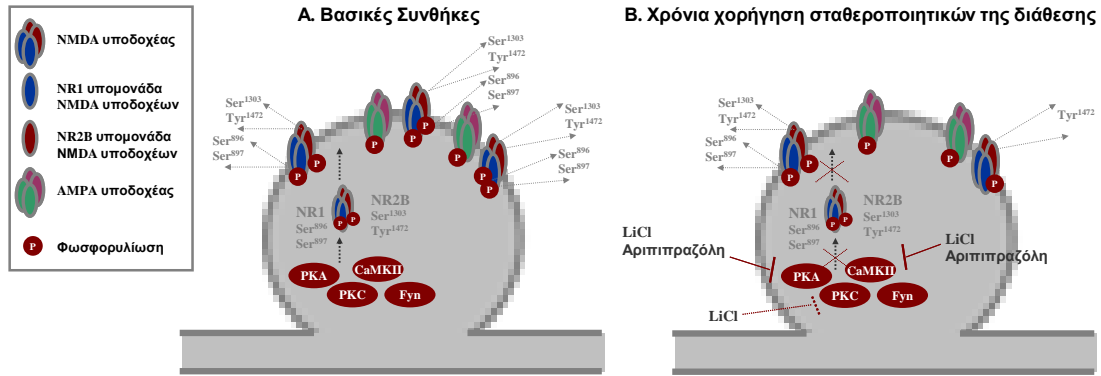
Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι η αριπιπραζόλη αναστέλλει την προσυναπτική απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος από τον προμετωπιαίο φλοιό (Yang & Wang, 2008) αναστέλλοντας την γλουταμινεργική δραστηριότητα. Επιπροσθέτως, το εύρημα αυτό υποδεικνύει ενδεχομένη μειωμένη πυροδότηση των γλουταμινεργικών νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού έπειτα από τη χορήγηση αριπιπραζόλης η οποία μπορεί να σχετίζεται με την προς τα κάτω ρύθμιση της δραστηριότητας των NMDA υποδοχέων στην περιοχή αυτή. Έτσι τα ευρήματα αυτά φαίνεται ότι συνάδουν με τα ευρήματα της δικιάς μας μελέτης που υποδηλώνουν μείωση της διακίνησης των NMDA υποδοχέων.

Μια πρόσφατη έρευνα έδειξε αλλαγές στην έκφραση των υπομονάδων των NMDA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης⁵⁰ σε φλοιϊκές περιοχές καθώς και τον ιππόκαμπο. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα NR1, NR2A και NR2C υπομονάδων έπειτα από τέσσερις εβδομάδες χορηγήσεων ενώ τα επίπεδα των NR2B υπομονάδων βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα μόνο μετά από τέσσερις μήνες χορήγησης αριπιπραζόλης (Segnitz et al., 2011). Τα ευρήματα ωστόσο αυτά δεν επαληθεύονται από τη δική μας μελέτη όπου η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε την έκφραση των συνολικών πρωτεϊνών των NR1 και NR2B υπομονάδων. Ωστόσο, θα πρέπει να τονίσουμε ότι η μελέτη αυτή εντόπισε αλλαγές στην έκφραση της NR1 υπομονάδας έπειτα από τέσσερις εβδομάδες χορηγήσεων ενώ οι αλλαγές στην NR2B υπομονάδα βρέθηκαν μόνο μετά από τέσσερις μήνες χορηγήσεων. Αντίθετα, η μελέτη μας εξέτασε τις επιδράσεις στα επίπεδα των πρωτεϊνών έπειτα από 22 ημέρες χορηγήσεων.

Μελέτες αξιολόγησης των επιδράσεων άλλων αντιψυχωσικών έδειξαν ότι η αλοπεριδόλη, αντίθετα από την ολανζαπίνη, επηρεάζει την διακίνηση των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό επίμυων (Del'guidice & Beaulieu, 2008· Fumagalli et al., 2008). Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με τα δικά μας δεδομένα που υποδεικνύουν ρύθμιση της διακίνησης των NMDA υποδοχέων και από την αριπιπραζόλη.

Τα ευρήματα των μελετών μας υποδεικνύουν ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης αναστέλλει την ένθεση στη μεμβράνη νέων υποδοχέων αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση τόσο της NR1 όσο και της NR2B υπομονάδας από τις PKA, PKC και CaMKII. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν την ύπαρξη μείωσης των ρευμάτων μέσω NMDA υποδοχέων και κατ' επέκταση της συναπτικής ισχύος έπειτα από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με τις νευροπροστατευτικές τους δράσεις. Η παρούσα διδακτορική διατριβή παρέχει τη δυνατότητα κατανόησης των μηχανισμών μέσω των οποίων η χρόνια χορήγηση λιθίου και αριπιπραζόλης αναστέλλει την ένθεση νέων υποδοχέων στη σύναψη.

⁵⁰ 4 εβδομάδες ή 4 μήνες



ΣΧΗΜΑ Σ2. Προτεινόμενο μοντέλο διακίνησης NMDA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό. Η αναστολή των PKA και CaMKII από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης αναστέλλει την φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁹⁷ από την PKA και της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³ από την CaMKII και PKC, ενώ επιπροσθέτως, το LiCl αναστέλλει την φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁹⁶ αναστέλλοντας τη δραστηριότητα της PKC.

(ii) **Διακίνηση AMPA υποδοχέων.** Η διακίνηση των AMPA υποδοχέων περιλαμβάνει την είσοδο, την ενδοκυττάρωση και τη μεταφορά τους στη σύναψη και παρέχει έναν κοινό μηχανισμό ρύθμισης της συναπτικής πλαστικότητας (Du et al., 2004). Επιπλέον, όπως προαναφέραμε, η διακίνηση τους συντελεί στη διατήρηση των μειζόνων νευρωνικών κυκλωμάτων που εμπλέκονται στη ρύθμιση του συναισθήματος (Du et al., 2010· 2007· 2004). Η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά την φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στις Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ και κατ' επέκταση τη διακίνηση των υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγησή τους, αν και δεν επηρέασε τη φωσφορυλίωση της Ser⁸³¹ (p- Ser⁸³¹-GluR1), μείωσε τη φωσφορυλίωση της Ser⁸⁴⁵ (p- Ser⁸⁴⁵-GluR1).

Η είσοδος νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη απαιτεί τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στην PKA θέση Ser⁸⁴⁵. Έτσι, τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης αναστέλλει την είσοδο νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη. Επιπλέον, η αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη θέση αυτή, οδηγεί σε ενδοκυττάρωση του υποδοχέα μέσω επικαλυμμάτων κλαθρίνης (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ3) ενώ είναι γνωστό ότι διαμεσολαβεί για την LTD, η οποία ουσιαστικά εξαρτάται από τη δραστηριότητα φωσφατασών και σχετίζεται με αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸⁴⁵ (Lee et

al., 2000· Lee et al., 1998· Kameyama et al., 1998). Έτσι, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης φαίνεται ότι επάγει LTD στον προμετωπιαίο φλοιό.

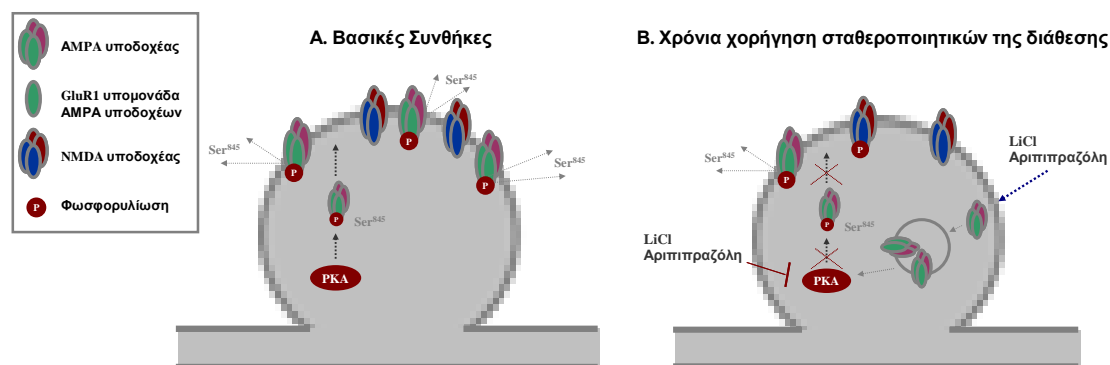
Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει μειωμένη έκφραση των AMPA υποδοχέων σε συναπτοσώματα από υπόκαμπο έπειτα από την χρόνια χορήγηση λιθίου, ενώ η μείωση αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με μειωμένη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στην εξαρτώμενη από την PKA θέση φωσφορυλίωσης, την Ser⁸⁴⁵ (Du et al., 2004). Τα δεδομένα αυτά συμφωνούν με τα δεδομένα των μελετών μας και στηρίζουν την μειωμένη συναπτική έκφραση των αποφωσφορυλιωμένων, στην κρίσιμη αυτή θέση, AMPA υποδοχέων.

Παρόμοια ευρήματα αναφορικά με την διακίνηση των AMPA υποδοχέων έχουν αναφερθεί και έπειτα από τη χρόνια χορήγηση VPA (Du et al., 2004), ενώ δε φαίνεται να υπάρχουν ανάλογες μελέτες αναφορικά με τη δράση της αριπιπραζόλης στη διακίνηση των AMPA υποδοχέων. Άλλες μελέτες με αντιψυχωσικά υποδεικνύουν ότι το κλασικό αντιψυχωσικό αλοπεριδόλη που δρα ως ανταγωνιστής των D₂ υποδοχέων, επηρεάζει τη διακίνηση των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα το άτυπο αντιψυχωσικό ολανζαπίνη που έχει μεγαλύτερη συγγένεια με τους 5-HT₂ υποδοχείς σεροτονίνης δεν επηρεάζει τη διακίνηση των AMPA υποδοχέων (Del'guidice & Beaulieu, 2008· Fumagalli et al., 2008).

Επιπροσθέτως, η ανάπτυξη ευαισθητοποίησης στις συμπεριφορικές επιδράσεις της κοκαΐνης έχει συσχετιστεί με αυξημένη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ στον προμετωπιαίο φλοιό και τον επικλινή πυρήνα (Zhang et al., 2007). Έτσι, φαίνεται ότι η ανάπτυξη σχετιζόμενων με το κύκλωμα ανταμοιβής συμπεριφορικών αλλαγών έπειτα από την χρόνια χορήγηση ψυχοτρόπων φαρμάκων που ρυθμίζουν το κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου μπορεί να διαμεσολαβείται, τουλάχιστον εν μέρει, από μηχανισμούς που εμπλέκουν τη διακίνηση των AMPA υποδοχέων.

Η παρούσα μελέτη έδειξε ρύθμιση της διακίνησης των AMPA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl ενώ για πρώτη φορά δείξαμε ότι και ο μερικός αγωνιστής αριπιπραζόλη μπορεί να ρυθμίσει τη διακίνηση των AMPA υποδοχέων από και προς τη σύναψη. Έτσι, τα δεδομένα μας σε συνδυασμό με προγενέστερες μελέτες προτείνουν τη διακίνηση των AMPA υποδοχέων ως έναν κοινό μηχανισμό όλων των σταθεροποιητικών της διάθεσης χωρίς ωστόσο να γνωρίζουμε το βαθμό στον οποίο σχετίζεται με τη θεραπευτική τους

αποτελεσματικότητα. Ωστόσο, τα δεδομένα αυτά προτείνουν το μοντέλο αυτό ως ένα δείκτη ανάπτυξης νέων σταθεροποιητικών της διάθεσης.



ΣΧΗΜΑ Σ3. Προτεινόμενο μοντέλο διακίνησης AMPA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό. Αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ από πρωτεϊνικές φωσφατάσες οδηγεί στην ενδοκυττάρωση των μεμβρανικών AMPA υποδοχέων μέσω επικαλυμμάτων κλαθρίνης και ανακύκλωσή τους στα ενδοσώματα ενώ η μείωση της δραστηριότητας της PKA που αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ οδηγεί σε αδυναμία ένθεσης νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη.

(iii) Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας. Όλο και περισσότερες ενδείξεις στηρίζουν την εμπλοκή του γλουταμινεργικού συστήματος στις σοβαρές υποτροπιάζουσες διαταραχές του συναισθήματος. Τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης μείωσαν τη φωσφορυλίωση των NMDA υποδοχέων αναστέλλοντας τα ρεύματα μέσω αυτών και έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση της νευρωνικής διεγερσιμότητας, γεγονός που έχει συσχετιστεί με τις νευροπροστατευτικές τους δράσεις. Η αναστολή αυτή φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερη έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl σε σχέση με τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης, γεγονός που σχετίζεται με την αναστολή της δραστηριότητας της PKC. Επιπλέον, ο αποκλεισμός των NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό έχει συσχετιστεί με τις ενισχυτικές ιδιότητες φαρμάκων όπως η φαινκυκλιδίνη (PCP) (Carlezon & Wise, 1996). Έτσι, εικάζουμε ότι η επαγόμενη από τη χρόνια χορήγηση LiCl αναστολή της PKC οδηγεί σε μείωση των ρευμάτων των NMDA υποδοχέων που πιθανώς σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl.

Προγενέστερες έρευνες έχουν δείξει ότι δομικά διαφορετικά σταθεροποιητικά της διάθεσης όπως το λίθιο και το VPA, μειώνουν την συναπτική έκφραση των AMPA υποδοχέων μειώνοντας τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ στον ιππόκαμπο, υποδηλώνοντας ότι η γλουταμινεργική συναπτική πλαστικότητα ενδεχομένως σχετίζεται με τις αντιμανιακές δράσεις των φαρμάκων αυτών (Du et al., 2007; 2004; 2003). Τα ευρήματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής στηρίζουν την υπόθεση αυτή παρέχοντας νέα δεδομένα ρύθμισης της διακίνησης των AMPA υποδοχέων μέσω μείωσης της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ και επαγωγής LTD στον προμετωπιαίο φλοιό όχι μόνο έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl αλλά και έπειτα από τη χρόνια χορήγηση του μερικού αγωνιστή των D₂/D₃ υποδοχέων, αριπιπραζόλη. Τα δεδομένα μας αν και δεν σχετίζουν απαραίτητα την διακίνηση των AMPA υποδοχέων με τις θεραπευτικές δράσεις των σταθεροποιητικών, ωστόσο προτείνουν το μηχανισμό αυτό ως ένα δείκτη καθορισμού νέων, ενδεχομένως εκλεκτικότερων σταθεροποιητικών της διάθεσης.

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα ευρήματα των μελετών της παρούσας διδακτορικής διατριβής (Βλ. ΠΙΝΑΚΑ Σ3) η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης οδηγεί στη μείωση της συναπτικής έκφρασης των ιοντοτροπικών γλουταμινεργικών υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό στον επίμυ οδηγώντας σε μείωση της μείζονος διεγερτικής νευροδιαβίβασης του εγκεφάλου στην περιοχή αυτή.

2.2. Νευρωνική πλαστικότητα στο κοιλιακό ραβδωτό.

2.2.1. Πρώτο επίπεδο: Ρύθμιση γονιδιακής μεταγραφής - Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό. Το κοιλιακό ραβδωτό συμπεριλαμβανομένου του επικλινούς πυρήνα αποτελεί κομβική περιοχή της μεσομεταιχμιακής ντοπαμινεργικής οδού και σχετίζεται με συμπεριφορές όπως η ενίσχυση και η κινητοποίηση (Ena et al., 2011; Carlezon & Thomas, 2009) ενώ η δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα CREB στην περιοχή αυτή φαίνεται ότι κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του συναισθήματος (DiNieri et al., 2009).

Αλλαγές σε ποικίλα επίπεδα νευρωνικής πλαστικότητας στο κοιλιακό ραβδωτό θα μπορούσαν να έχουν αντίκτυπο στο συμπεριφορικό φαινότυπο που μελετήσαμε.

ΠΙΝΑΚΑΣ Σ3.
Επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση των υπομονάδων των AMPA και NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό

ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ	ΘΕΣΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ LiCl	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ LiCl
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸³¹	-	-
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸⁴⁵	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁶	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁷	-	↓
NR2B (NMDA)	Ser ¹³⁰³	-	↓
NR2B (NMDA)	Tyr ¹⁴⁷²	-	-

ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ	ΘΕΣΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΡΙΠΙΠΡΑΖΟΛΗΣ	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΡΙΠΙΠΡΑΖΟΛΗΣ
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸³¹	-	-
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸⁴⁵	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁶	-	-
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁷	-	↓
NR2B (NMDA)	Ser ¹³⁰³	-	↓
NR2B (NMDA)	Tyr ¹⁴⁷²	-	-

Η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στο κοιλιακό ραβδωτό. Αντίθετα, τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης μείωσαν σημαντικά τη φωσφορυλίωση του CREB στο κοιλιακό ραβδωτό. Η μείωση αυτή πιθανότατα οδηγεί και σε μείωση διεργασιών μεταγραφής πρωτεϊνών.

Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει μείωση της έκφρασης γονιδίων που επάγονται από τον CREB καθώς και μείωση της φωσφορυλίωσής του έπειτα από τη χρόνια αλλά όχι την οξεία χορήγηση LiCl στο ραβδωτό και άλλες περιοχές του ΚΝΣ (Böer et al., 2008). Τα ευρήματα της μελέτης των Böer και συνεργατών συμφωνούν με τα δεδομένα των δικών μας μελετών.

Η παρούσα μελέτη φαίνεται ωστόσο ότι αποτελεί την πρώτη προσπάθεια εκτίμησης των επιδράσεων της χορήγησης αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του CREB. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα τυπικά και τα άτυπα αντιψυχωσικά ασκούν αντίθετες δράσεις στη φωσφορυλίωση του CREB στο ραχιαίο ραβδωτό. Πιο συγκεκριμένα, η οξεία χορήγηση αλοπεριδόλης έχει δείχθει ότι αυξάνει την φωσφορυλίωση του CREB στο ραχιαίο ραβδωτό, ενώ αντίθετα η οξεία κλοζαπίνης τη μειώνει (Pozzi et al., 2003). Επιπλέον, η χρόνια χορήγηση του D₂ αγωνιστή κουινπιρόλη έχει δείχθει ότι αυξάνει τη φωσφορυλίωση του CREB στον επικλινή πυρήνα (Culm et al., 2004). Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι το προφίλ της αριπιπραζόλης αναφορικά με την φωσφορυλίωση του CREB προσομοιάζει με αυτό των άτυπων αντιψυχωσικών καθώς και με αυτό των σταθεροποιητικών της διάθεσης.

Άλλα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στον επικλινή πυρήνα αλλά και σε άλλες περιοχές, από εξαρτησιογόνους ουσίες ή στρες διαμεσολαβεί για συγκεκριμένες πτυχές του εθισμού καθώς και για καταθλιπτικόμορφες και αγχώδεις συμπεριφορές (Carlezon et al., 2005; Turgeon et al., 1997). Στην ίδια κατεύθυνση, η υπερέκφραση του CREB στον επικλινή πυρήνα μειώνει τις ενισχυτικές ιδιότητες φαρμάκων (Carlezon et al., 1998).

Πολλές από τις ανηδονικές επιδράσεις του CREB σχετίζονται με αύξηση των επιπέδων δυνορφίνης (Carlezon et al., 1998). Εκλεκτικοί αγωνιστές των κ οπιοειδών υποδοχέων έχουν επιδράσεις παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται έπειτα από αυξημένη ενεργοποίηση του CREB στον επικλινή πυρήνα, προκαλώντας ανηδονία και δυσφορία (Carlezon & Thomas, 2008). Αντίθετα, ανταγωνιστές των κ υποδοχέων έχουν αντικαταθλιπτικές δράσεις που προσομοιάζουν στη διαταραγμένη λειτουργικότητα του CREB στον επικλινή πυρήνα. Έτσι φαίνεται ότι μια φαρμακοεπαγόμενη συνέπεια της ενεργοποίησης του CREB στον επικλινή πυρήνα είναι η αυξημένη μεταγραφή δυνορφίνης η οποία επάγει καταθλιπτικής φύσεως συμπτώματα (Carlezon & Thomas, 2008).

Πρόσφατες νευροαπεικονιστές μελέτες στον άνθρωπο που υποδεικνύουν ότι ο επικλινής πυρήνας ενεργοποιείται παρουσία τόσο θετικών όσο και αρνητικών ενισχυτών σε διάφορα στάδια επεξεργασίας της ενίσχυσης (προσδοκία, αποτέλεσμα, αξιολόγηση κ.τ.λ.) (Liu et al., 2011). Έτσι, αλλαγές στην ενεργοποίηση μεταγραφικών διεργασιών στο κοιλιακό ραβδωτό θα μπορούσαν να έχουν διπλής κατεύθυνσης συμπεριφορικά αποτελέσματα. Σε κάθε περίπτωση, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν την καταστολή μεταγραφικών διεργασιών στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης.

2.2.2. Δεύτερο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό - Δραστηκότητα κινασών.

(i) **PKA.** Όπως προαναφέραμε, υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν δυσλειτουργία του μονοπατιού της PKA στη ΔΔ (Du et al., 2004· Chang et al., 2003a· Bezchlibnyk & Young, 2002· Stewart et al., 2001). Επιπλέον είναι γνωστό ότι η δραστηκότητα της PKA αποτελεί σημαντικό μεσολαβητή της ενεργοποίησης του ντοπαμινεργικού κυκλώματος ανταμοιβής (Borgkvist et al., 2007· Gerdjikov et al., 2007).

Η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης ανέστειλε τη δραστηκότητα της PKA στο κοιλιακό ραβδωτό όπως υποδεικνύεται από τη μείωση της φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη θέση Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁷- NR1). Ωστόσο, αν και παρουσιάστηκε ανάλογη τάση στη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸⁴⁵ (p-Ser⁸⁴⁵-GluR1), η τάση αυτή οριακά δε βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Το γεγονός αυτό ωστόσο μπορεί να σχετίζεται με αλλαγές ως προς τη στερεοδιαμόρφωση του AMPA υποδοχέα ή άλλα γεγονότα τα οποία μπορεί να επηρεάσουν τη «συγγένεια» της κινάσης με το υπόστρωμά της επηρεάζοντας κατ' επέκταση και το βαθμό φωσφορυλίωσής του υποστρώματος.

Σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι το λίθιο αυξάνει τα βασικά επίπεδα αλλά μειώνει την επαγόμενη από ερεθίσματα αύξηση του κυκλικού AMP και τη δραστηκότητα της PKA. Η δράση αυτή του λιθίου έχει προταθεί ότι αποτελεί το υπόστρωμα της υποκείμενης αντικαταθλιπτικής και αντιμανιακής του δράσης (Liang et al., 2008). Έτσι, η αναστολή της PKA έπειτα από την οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης, η οποία φαίνεται να είναι εκλεκτική τόσο για το συγκεκριμένο ένζυμο

όσο και για τη συγκεκριμένη εγκεφαλική περιοχή, μπορεί να σχετίζεται τόσο με τις ανηδονικές τους δράσεις έπειτα από οξεία χορήγηση όσο και με τις «αντιμανιακές» δράσεις των φαρμάκων που παρατηρήσαμε στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε σημαντικά τη δραστικότητα της PKA στο κοιλιακό ραβδωτό, όπου παρατηρήσαμε στατιστικά σημαντική μείωση τόσο της p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 όσο και της p-Ser⁸⁹⁷-NR1. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν μείωση της ενδοκυττάριας διαβίβασης του μονοπατιού της PKA έπειτα από χρόνια χορήγηση και συνάδουν με τα δεδομένα μας στην περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού καθώς και με προγενέστερες μελέτες που παρουσίασαν ανάλογα ευρήματα στην περιοχή του ιπποκάμπου (Du et al., 2004).

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη παρέχει για πρώτη φορά δεδομένα αναφορικά με τις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στη δραστικότητα της PKA σε μια από τις πλέον κομβικές περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής όπως το κοιλιακό ραβδωτό. Τα δεδομένα μας υποστηρίζουν την εκλεκτική μείωση της δραστικότητας της PKA στην περιοχή αυτή έπειτα από την οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης γεγονός που σχετίζεται με τις ανηδονικές τους δράσεις στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ωστόσο, η αναστολή της δραστικότητας του ενζύμου παρουσιάζεται σταθερή στο χρόνο καθώς φαίνεται ότι και μετά τη χρόνια χορήγησή τους παρουσιάζονται ανάλογα αποτελέσματα ως προς τη φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων της. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι αν και η δραστικότητα της PKA μπορεί να σχετίζεται με τις ανηδονικές επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης, η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του LiCl εμπλέκει άλλους υποκείμενους μηχανισμούς.

(ii) PKC. Η αυξημένη δραστικότητα της PKC έχει συσχετιστεί με τη μανιακή φάση της ΔΔ καθώς και με τη δράση των ψυχοδιεγερτικών, ενώ έχει υποστηριχθεί ότι αποτελεί θεραπευτικό στόχο ανάπτυξης νέων εκλεκτικών φαρμακευτικών αγωγών (Zarate & Manji, 2009· Hahn et al., 2005· Bebchuk et al., 2000· Wang et al., 1999· Friedman et al., 1993). Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη δραστικότητα της PKC στο κοιλιακό ραβδωτό, με βάση τα αποτελέσματα από τη μελέτη της φωσφορυλιωμένης κατάστασης των υποστρωμάτων της (p-Ser⁸⁹⁶-NR1, p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Ser⁸³¹-GluR1). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση και των δύο σταθεροποιητικών μείωσε σημαντικά τη δραστικότητα της PKC όπως υποδεικνύεται από τη μελέτη της

εκλεκτικής για την PKC θέση φωσφορυλίωσης στην NR1 υπομονάδα, τη Ser⁸⁹⁶. Ωστόσο, η p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Ser⁸³¹-GluR1 μειώθηκαν μόνο έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και όχι αριπιπραζόλης. Καθώς οι θέσεις αυτές φωσφορυλίωσης δεν είναι εκλεκτικές για την PKC αλλά αποτελούν και θέσεις φωσφορυλίωσης για την CaMKII πιστεύουμε ότι δεν αποτελεί αρνητικό εύρημα αναφορικά με τη ρύθμιση της PKC.

Τα ευρήματά μας αναφορικά με τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης LiCl στη δραστηριότητα της PKC συνάδουν με προγενέστερες μελέτες σε άλλες εγκεφαλικές περιοχές καθώς και με τα δεδομένα μας από τη μελέτη της δραστηριότητας του ενζύμου στον προμετωπιαίο φλοιό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης φαίνεται ότι ανέστειλε εκλεκτικά τη δραστηριότητα της PKC στο κοιλιακό ραβδωτό και όχι στον προμετωπιαίο φλοιό. Ανάλογη ρύθμιση από την αριπιπραζόλη παρατηρήσαμε και στις επιδράσεις της στη δραστηριότητα του CREB, ο οποίος φαίνεται ότι ρυθμίζεται από την αριπιπραζόλη μόνο στο κοιλιακό ραβδωτό και όχι στον προμετωπιαίο φλοιό. Τα ευρήματα αυτά πιθανώς σχετίζονται με την αυξημένη έκφραση των D₂/D₃ υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό γεγονός που αυξάνει τις «ανταγωνιστικές» επιδράσεις της αριπιπραζόλης στους μετασυναπτικούς ντοπαμινεργικούς υποδοχείς έχοντας ως τελικό άμεσο ή έμμεσο αποτέλεσμα την μεγαλύτερη αύξηση της αναστολής ενζύμων.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή παρέχει νέα δεδομένα αναφορικά με τη ρύθμιση της δραστηριότητας της PKC από την αριπιπραζόλη, η οποία φαίνεται να είναι εκλεκτική στην περιοχή του κοιλιακού ραβδωτού έπειτα από τη χρόνια χορήγηση του φαρμάκου. Επιπλέον, δείξαμε ότι και η χρόνια χορήγηση LiCl ανέστειλε την ενεργοποίηση της PKC, εύρημα που συμφωνεί με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Ωστόσο η συσχέτιση των δεδομένων αυτών με τα συμπεριφορικά μας δεδομένα υποδεικνύει ότι η αναστολή αυτή δε σχετίζεται με τις αντιμανιακές δράσεις του φαρμάκου καθώς το ένζυμο αναστέλλεται μόνο έπειτα από χρόνια χορήγηση όπου συμπεριφορικά δείξαμε ότι η χρόνια χορήγηση LiCl αδυνατεί να αναστείλει την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό.

(iii) CaMKII. Όπως προαναφέραμε, η CaMKII κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας (Yamasaki et al., 2008) ενώ αλλαγές στο επίπεδο της συναπτικής πλαστικότητας στο κοιλιακό ραβδωτό έχουν εμπλακεί σε ψυχιατρικές διαταραχές που σχετίζονται με διαταραγμένη ομοιόσταση του κυκλώματος ανταμοιβής όπως ο εθισμός (Beveridge et al., 2011· Wolf, 2010). Η οξεία χορήγηση

LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη δραστηριότητα της CaMKII στο κοιλιακό ραβδωτό καθώς δεν βρέθηκαν διαφορές ως προς τις p-Ser¹³⁰³-NR2B και p-Ser⁸³¹-GluR1. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση LiCl, αλλά όχι αριπιπραζόλης, μείωσε τη φωσφορυλιωμένη NR2B υπομονάδα των NMDA υποδοχέων στη Ser¹³⁰³ καθώς και τη φωσφορυλιωμένη GluR1 υπομονάδα των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸³¹. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν προς τα κάτω ρύθμιση του μονοπατιού της CaMKII στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl. Επιπλέον, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η δραστηριότητα της CaMKII σε «σιωπηλές» (silent) συνάψεις⁵¹ είναι απαραίτητη για την ένθεση νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη. Ο συσχετισμός των ευρημάτων αυτών με τα συμπεριφορικά μας δεδομένα υποδεικνύει ότι η προς τα κάτω ρύθμιση της δραστηριότητας της CaMKII στο κοιλιακό ραβδωτό πιθανώς εμπλέκεται στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του LiCl.

Τα ευρήματά μας υποστηρίζουν ότι αν και το LiCl αναστέλλει τη δραστηριότητα της CaMKII τόσο στον προμετωπιαίο φλοιό όσο και στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από χρόνια χορήγηση, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης αναστέλλει εκλεκτικά την ενεργοποίηση της CaMKII στον προμετωπιαίο φλοιό και όχι στο κοιλιακό ραβδωτό. Προγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η επαναλαμβανόμενη χορήγηση αλοπεριδόλης, κλοζαπίνης ή ρισπεριδόνης μειώνει τα επίπεδα CaMKII στο ραβδωτό, ενώ το λίθιο φαίνεται να αυξάνει μόνο τα επίπεδα της CaMKβ (Rushlow et al., 2009). Τα ευρήματα αυτά δε φαίνονται να επαληθεύονται από τα ευρήματα των μελετών μας καθώς η χρόνια χορήγηση των σταθεροποιητικών δεν επηρέασε την έκφραση της συνολικής πρωτεΐνης CaMKII στο κοιλιακό ραβδωτό.

Συμπερασματικά, η προς τα κάτω ρύθμιση της δραστηριότητας της CaMKII και η υποκείμενη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας στο κοιλιακό ραβδωτό έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl μπορεί να αποτελεί έναν από τους υποκείμενους μοριακούς μηχανισμούς που σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου. Έτσι, η δραστηριότητα της CaMKII μπορεί να εμπλέκεται σε σχετιζόμενους με τη δραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής συμπεριφορικούς φαινότυπους.

(iv) Fyn. Αν και η έκφραση της κινάσης της τυροσίνης Fyn στον επικλινική πυρήνα είναι μέτρια, η σημαντική της εμπλοκή στη συναπτική πλαστικότητα μας οδήγησε

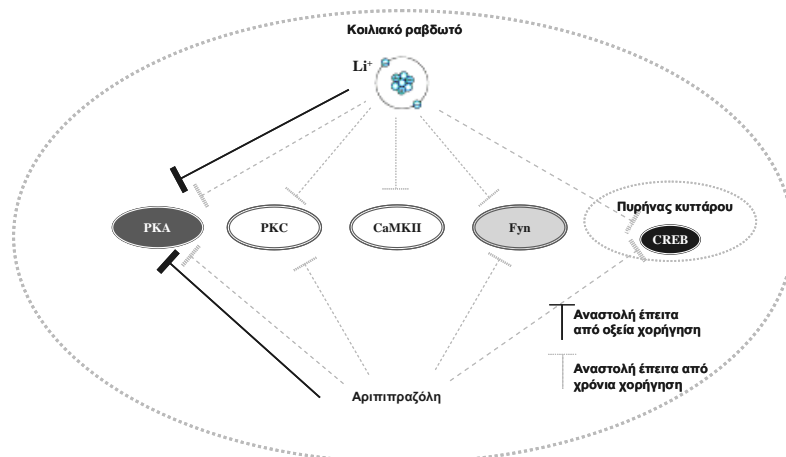
⁵¹ Στις συνάψεις αυτές εκλείπουν οι AMPA υποδοχείς

στην αξιολόγηση της δραστηριότητάς της στην περιοχή του κοιλιακού ραβδωτού. Τα δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη δραστηριότητα της Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό, καθώς δεν βρέθηκαν διακυμάνσεις στη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στην Tyr¹⁴⁷² (p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B). Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε την p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B γεγονός που υποδεικνύει ότι η χρόνια χορήγησή τους οδήγησε σε προς τα κάτω ρύθμιση της δραστηριότητας της Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό. Η αποφωσφορυλίωση της Tyr¹⁴⁷² σχετίζεται με τη δραστηριότητα φωσφατασών οι οποίες φαίνεται ότι ενεργοποιούνται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Όπως θα δούμε παρακάτω, η αποφωσφορυλίωση ασκεί μείζονες επιδράσεις στην διακίνηση του NMDA υποδοχέα οδηγώντας στην επαγόμενη από επικαλύμματα κλαθρίνης ενδοκυττάρωση του.

Δεν υπάρχουν προγενέστερες μελέτες που να αξιολογούν τις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στη δραστηριότητα της Fyn στην κεντρική αυτή περιοχή του κυκλώματος ανταμοιβής. Επιπλέον, τα ευρήματα της δικιάς μας μελέτης υπέδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου, αλλά όχι αριπιπραζόλης, έτεινε να μειώσει τη δραστηριότητα της Fyn στον προμετωπιαίο φλοιό αλλά η μείωση αυτή δε βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Προγενέστερες μελέτες αξιολόγησης διαταραγμένης ομοιόστασης του κυκλώματος ανταμοιβής έχουν δείξει ότι ελλείμματα στη δραστηριότητα της κινάσης της τυροσίνης Fyn μπορεί να σχετίζονται με την ανάπτυξη συμπεριφορικών προσαρμογών έπειτα από τη χρόνια χορήγηση ψυχοτρόπων φαρμάκων. Πιο συγκεκριμένα, η μειωμένη φωσφορυλίωση της NR2B στην Tyr¹⁴⁷² στο τμήμα του κορμού του επικλινή πυρήνα έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη συμπεριφορικής ευαισθητοποίησης στις επιδράσεις της κοκαΐνης (Zhang et al., 2007). Καθώς όπως προαναφέραμε, η ενεργοποίηση του επικλινούς πυρήνα σχετίζεται τόσο με ενισχυτικά όσο και με αποστροφικά ερεθίσματα εικάζουμε ότι αυτή η διπλής κατεύθυνσης ρύθμιση της δραστηριότητας της περιοχής μπορεί να επηρεάζεται από τη δραστηριότητα της Fyn. Έτσι, η μειωμένη δραστηριότητά της που έχει ως αποτέλεσμα την ενδοκυττάρωση των NMDA υποδοχέων και τη μείωση των ρευμάτων μέσω αυτών μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη συμπεριφορικών προσαρμογών που αντικατοπτρίζονται στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Εικάζουμε ότι η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl έπειτα από τη χρόνια χορήγησή του μπορεί εν μέρει να σχετίζεται με τη μείωση της συναπτικής έκφρασης των NMDA υποδοχέων, η οποία επάγεται

από την μειωμένη δραστικότητα της Fyn που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εκπόλωσης των ανασταλτικών GABAεργικών νευρώνων του επικλινούς πυρήνα. Το προτεινόμενο αυτό μοντέλο παρουσιάζεται αναλυτικότερα στη συνέχεια.

Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η δραστικότητα της Fyn βρέθηκε στατιστικά σημαντικά μειωμένη και έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης, η οποία ωστόσο υπέδειξε σταθερό ανηδονικό προφίλ στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτορεθισμού. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να ερμηνευθούν με δύο υποθέσεις. Η πρώτη υπόθεσή μας υποστηρίζει την ύπαρξη άλλων προσαρμοστικών μηχανισμών νευρωνικής πλαστικότητας οι οποίοι αναστέλλουν την ανάπτυξη συμπεριφορικών προσαρμογών. Σε κάθε περίπτωση η υπόθεση αυτή στηρίζεται από το γεγονός ότι αν και στο συμπεριφορικό μας πρότυπο τόσο η ανηδονική όσο και η αντιμανιακή δράση της αριπιπραζόλης παρουσιάζεται σταθερή στο χρόνο, τα μοριακά μας δεδομένα υποδεικνύουν την ύπαρξη επιπρόσθετων μηχανισμών έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης πλην της απλής αναστολής της PKA στο κοιλιακό ραβδωτό που παρατηρήσαμε μετά από την οξεία χορήγησή της. Ο βαθμός στον οποίο το εκάστοτε μοριακό εύρημα αντικατοπτρίζεται στο συμπεριφορικό μας φαινότυπο δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια. Μελλοντικές μελέτες οι οποίες θα συνέβαλλαν στην εκλεκτική αυξορύθμιση για παράδειγμα της δραστικότητας της Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό ακολούθως της χρόνιας χορήγησης αριπιπραζόλης θα μπορούσαν να μας δώσουν σαφέστερες απαντήσεις αναφορικά με τον αντίκτυπο των μοριακών δεδομένων στην υπό μελέτη συμπεριφορά. Τέλος, η δεύτερη υπόθεσή μας δεν αποκλείει την απουσία σημαντικής εμπλοκής της δραστικότητας της Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό στην ανάπτυξη συμπεριφορικής ανοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του LiCl, αλλά θεωρεί ότι η ρύθμιση της από τα σταθεροποιητικά της διάθεσης μπορεί να έχει έως και θεραπευτικά αποτελέσματα σε άλλους συμπεριφορικούς ενδοφαινότυπους. Η τελευταία μάλιστα υπόθεση στηρίζεται από το γεγονός ότι η επαγόμενη από τη Fyn ενδοκυττάρωση των NMDA υποδοχέων σχετίζεται με νευροπροστατευτικές επιδράσεις φαρμάκων συμπεριλαμβανομένου του LiCl (Hashimoto et al., 2003).



ΣΧΗΜΑ Σ4. Επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης $LiCl$ και αριπιπραζόλης στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο κοιλιακό ραβδωτό. Οι οξείες ανηδονικές δράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης φαίνεται ότι σχετίζονται με αναστολή της δραστηριότητας της PKA στο κοιλιακό ραβδωτό. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση $LiCl$ και αριπιπραζόλης, μείωσε τη δραστηριότητα ποικίλων ενδοκυττάρων μονοπατιών καθώς και την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Στους ενδοκυττάρους μοριακούς στόχους δράσης της χρόνιας χορήγησης $LiCl$ περιλαμβάνονται οι PKA, PKC, CaMKII καθώς και η Fyn, η δραστηριότητα των οποίων βρέθηκε σημαντικά μειωμένη έπειτα από τη χρόνια χορήγηση του φαρμάκου. Αντίθετα, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης ανέστειλε τη σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού της PKA, PKC και Fyn αλλά δεν επηρέασε τη δραστηριότητα του μονοπατιού της CaMKII η οποία κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας.

2.2.3. Τρίτο επίπεδο: Επιδράσεις της οξείας και της χρόνιας χορήγησης $LiCl$ και αριπιπραζόλης στη συναπτική πλαστικότητα στο κοιλιακό ραβδωτό.

(i) **Διακίνηση NMDA υποδοχέων.** Με βάση τα παραπάνω, η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης επηρεάζει τη διακίνηση ιοντοτροπικών υποδοχέων. Η οξεία χορήγηση $LiCl$ και αριπιπραζόλης μείωσε τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην PKA εξαρτώμενη θέση Ser⁸⁹⁷ (p-Ser⁸⁹⁷-NR1). Η φωσφορυλίωση στη θέση αυτή προάγει τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων στη σύναψη ενώ η μείωση της φωσφορυλίωσης αυτής μπορεί να σχετίζεται με μείωση της διακίνησης των NMDA υποδοχέων στη σύναψη αν και η θέση αυτή δεν αποτελεί μοναδικό προαπαιτούμενο για την ένθεση νέων NMDA υποδοχέων στη σύναψη. Αντίθετα, η οξεία χορήγηση $LiCl$ και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην PKC θέση τη Ser⁸⁹⁶ (p-Ser⁸⁹⁶-NR1) αλλά ούτε και τη

φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³ (p-Ser¹³⁰³-NR2B) ή τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² (p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι ενδεχομένως δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις της οξείας χορήγησης σταθεροποιητικών της διάθεσης στη διακίνηση των NMDA υποδοχέων και ότι οι σχετιζόμενες με τη δραστηριότητα της PKA συμπεριφορικές επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης είναι ανεξάρτητες από τη δραστηριότητα των NMDA υποδοχέων.

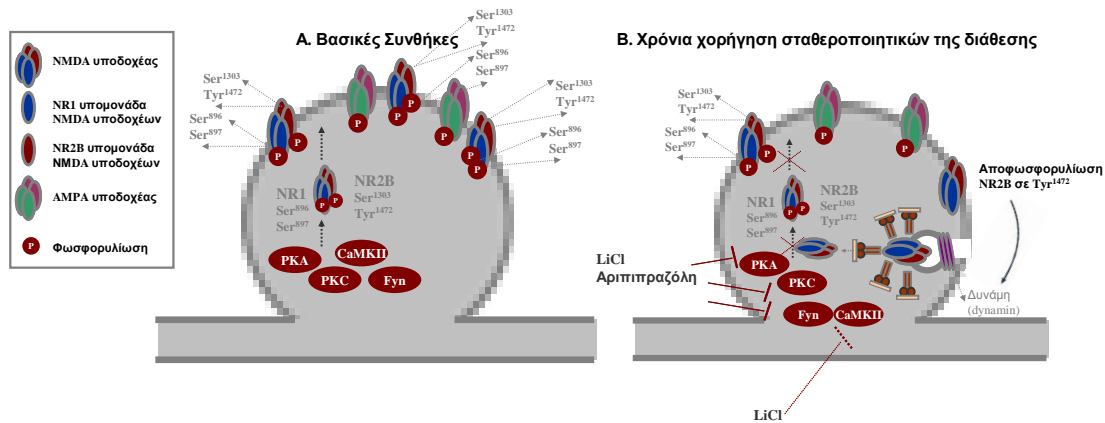
Η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε την επαγόμενη από την PKA και PKC, αντίστοιχα, φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στις θέσεις Ser⁸⁹⁷ και Ser⁸⁹⁶ (p-Ser⁸⁹⁷-NR1 και p-Ser⁸⁹⁶-NR1). Καθώς η φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στις Ser⁸⁹⁶ και Ser⁸⁹⁷ προάγει τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων στην πλασματική μεμβράνη (Lau & Zukin, 2007), η μείωση των φωσφορυλίωσεων αυτών αναστέλλει την διακίνηση των νέων NMDA υποδοχέων και την προσθήκη τους στην πλασματική μεμβράνη. Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με τα δεδομένα από την αντίστοιχη μελέτη μας στον προμετωπιαίο φλοιό αν και στην περιοχή αυτή δεν είχαμε βρει μείωση στην p-Ser⁸⁹⁶-NR1, γεγονός που υποδεικνύει μεγαλύτερες επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό αναφορικά με τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων.

Επιπροσθέτως, η χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης μείωσε την επαγόμενη από τις PKC και CaMKII φωσφορυλίωση της NR2B στη Ser¹³⁰³ (p-Ser¹³⁰³-NR2B). Η φωσφορυλίωση της θέσης αυτής της NR2B υπομονάδας φαίνεται ότι διαμεσολαβεί για την LTP και κατ' επέκταση μείωση της φωσφορυλίωσης αυτής μπορεί να συμβάλει σε μια αντίθετη κατάσταση όπως η LTD. Τέλος, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της NR2B στην Tyr¹⁴⁷² (p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B), η οποία σχετίζεται με ενδοκυττάρωση των NMDA υποδοχέων (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ5). Η ενδοκυττάρωση των NMDA υποδοχέων έχει φυσικά ως αποτέλεσμα τη μείωση της εξαρτώμενης από το γλουταμινεργικό δραστηριότητας.

Μελέτες για την αξιολόγηση του συμπεριφορικού φαινότυπου ποντικών στα οποία έχει εξαλειφθεί εκλεκτικά το γονίδιο της NR1 υπομονάδας του NMDA υποδοχέα στο ραβδωτό (conditional k.o.) ανέδειξαν τη σημαντική εμπλοκή των υποδοχέων αυτών σε διεργασίες σχετιζόμενες με δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως είναι ο εθισμός (Ena et al., 2011). Η μελέτη μας υπέδειξε

σημαντική μείωση της φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας έπειτα από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με τη μειωμένη διακίνησή τους προς την μεμβράνη. Παρ' όλα αυτά, η διακίνηση των AMPA υποδοχέων δεν ελέγχεται μόνο από NR1 εξαρτώμενους μηχανισμούς αλλά και η συμβολή των NR2B υπομονάδων είναι μείζονος σημασίας για τη διακίνηση και κυρίως την ενδοκυττάρωσή τους. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ στην NR2B υπομονάδα διευκολύνει τα ρεύματα μέσω NMDA υποδοχέων, ενώ η φωσφορυλίωση αυτή δείξαμε ότι αναστέλλεται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό. Έτσι, η αναστολή των NMDA- εξαρτώμενων ρευμάτων που σχετίζονται με αποφωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ της NR2B υπομονάδας από τις PKC και CaMKII συμβάλλει στη μείωση της νευρωνικής εκπόλωσης και μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl. Τέλος, όπως συζητήσαμε αναλυτικά προηγουμένως, η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl μπορεί να σχετίζεται και με την διαμεσολαβούσα της Fyn μείωση των ρευμάτων των NMDA υποδοχέων, που σχετίζεται με την ενδοκυττάρωσή τους (Βλ. παραπάνω συζήτηση αναφορικά με τη δραστηκότητα κινασών (iv) Fyn).

Συμπερασματικά, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αποτελούν την πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού των επιδράσεων των σταθεροποιητικών της διάθεσης στη διακίνηση των NMDA υποδοχέων σε μια μείζονα περιοχή για τις διεργασίες ανταμοιβής και τις συναισθηματικές λειτουργίες, όπως είναι το κοιλιακό ραβδωτό. Η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών μείωσε τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων προς την σύναψη ενώ αύξησε την διαμεσολαβούμενη από επικαλύμματα κλαθρίνης ενδοκυττάρωσή τους. Ωστόσο, τα δεδομένα αυτά ενδεχομένως αντικατοπτρίζονται στον συμπεριφορικό φαινότυπο σε συνάρτηση με την ικανότητα του νευρώνα να προσεγγίσει τον ουδό πυροδότησής του. Η αναστολή που ασκεί η χρόνια χορήγηση LiCl στα ρεύματα μέσω NMDA είναι μεγαλύτερη σε σχέση με την αναστολή που ασκεί η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης. Γι' αυτό το λόγο υποθέτουμε ότι οι νευρώνες του κοιλιακού ραβδωτού αν και έχουν τη δυνατότητα πυροδότησης μετά τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης, δεν εκπολώνονται επαρκώς έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl με αποτέλεσμα την «απόσβεση» των ανηδονικών επιδράσεων του φαρμάκου, οι οποίες κωδικοούνται μέσω της ενεργοποίησης του επικλινούς πυρήνα. Ο μηχανισμός αυτός πιθανώς εμπλέκει την αναστολή της δραστηκότητας της CaMKII η οποία αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας Ser¹³⁰³.



ΣΧΗΜΑ Σ5. Προτεινόμενο μοντέλο διακίνησης NMDA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό. Η αναστολή των PKA και PKC από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας στην Ser⁸⁹⁷ από την PKA και της Ser⁸⁹⁶ από την PKC. Η χρόνια χορήγηση LiCl αναστέλλει την φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³ από την CaMKII, ενώ επιπροσθέτως, τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης αναστέλλουν τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷² οδηγώντας στην επαγόμενη από επικαλύμματα κλαθρίνης ενδοκυττάρωση του υποδοχέα.

(ii) **Διακίνηση AMPA υποδοχέων.** Όπως προαναφέραμε, η συναπτική πλαστικότητα στην περιοχή του κοιλιακού ραβδωτού μπορεί να σχετίζεται με συμπεριφορές που αντικατοπτρίζουν διαταραχή της ομοιόστασης του κυκλώματος ανταμοιβής. Τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι η οξεία χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης δεν επηρέασε την φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹ και Ser⁸⁴⁵ (p-Ser⁸³¹-GluR1 και p-Ser⁸⁴⁵-GluR1) και άρα τη διακίνησή των AMPA υποδοχέων από και προς την πλασματική μεμβράνη.

Η χρόνια χορήγηση τόσο LiCl όσο και αριπιπραζόλης μείωσε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ (p-Ser⁸⁴⁵-GluR1) στο κοιλιακό ραβδωτό. Η μείωση της p-Ser⁸⁴⁵-GluR1 αναστέλλει την μεταφορά νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη ενώ η αποφωσφορυλίωση της GluR1 στη θέση αυτή οδηγεί και στην ενδοκυττάρωση του υποδοχέα μέσω επικαλυμμάτων κλαθρίνης και LTD. (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ6B). Έτσι, η χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης επάγει LTD στο κοιλιακό ραβδωτό.

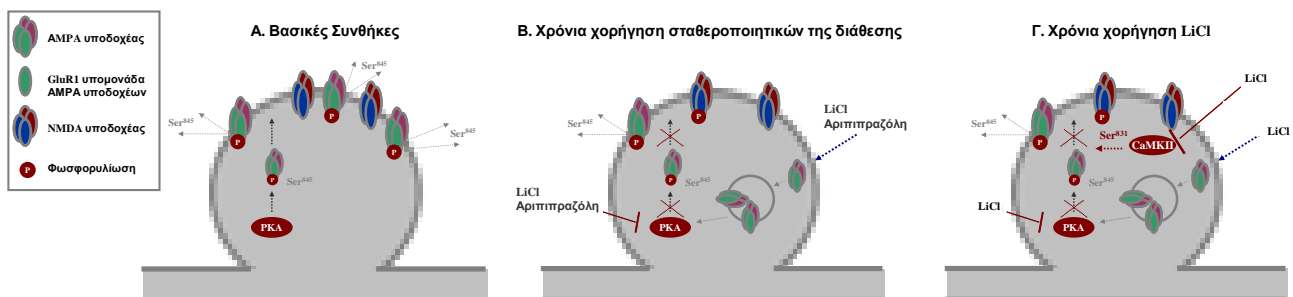
Η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε σημαντικά και την p-Ser⁸³¹-GluR1. Όπως προαναφέραμε, κατά την LTP οι AMPA υποδοχείς ενεργοποιούνται μέσω φωσφορυλίωσης στη Ser⁸³¹ της GluR1 υπομονάδας από την CaMKII (Lee, 2006·

Miyamoto, 2006). Έτσι, αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας σχετίζεται με μειωμένη ενεργοποίηση των AMPA υποδοχέων ως απόκριση στην ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της GluR1 από την CaMKII απαιτείται για τη μεταφορά των AMPA υποδοχέων στις «σιωπηλές» συνάψεις όπου εκλείπουν οι AMPA υποδοχείς (Du et al., 2004; Liao et al., 2001a). Το τελικό αποτέλεσμα της αναστολής της δραστηριότητας της CaMKII έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl θα είναι η αύξηση της αναστολής ένθεσης νέων AMPA υποδοχέων στις συνάψεις του κοιλιακού ραβδωτού (βλ. ΣΧΗΜΑ Σ6Γ). Αντίθετα από τη χρόνια χορήγηση LiCl, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης δεν επηρέασε σημαντικά τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹ (p-Ser⁸³¹-GluR1).

Οι εξαρτησιογόνοι ουσίες έχει δειχθεί ότι αλλάζουν την έκφραση των AMPA υποδοχέων στον επικλινή πυρήνα αλλά η ακριβής επίδραση των αλλαγών αυτών στις διεργασίες κινητοποίησης δεν είναι σαφής. Υπερέκφραση της GluR1 υπομονάδας στο κέλυφος του επικλινούς πυρήνα έχει δειχθεί ότι επηρεάζει τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού αυξάνοντάς τον, ενώ αντίθετα υπερέκφραση της GluR2 υπομονάδας στην ίδια περιοχή μπορεί να έχει αντίστροφα αποτελέσματα (Todtenkopf et al., 2006). Επιπλέον, στο φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο πλαστικότητας του κυκλώματος ανταμοιβής που σχετίζεται με την ανάπτυξη ευαισθητοποίησης στις ενισχυτικές δράσεις της κοκαΐνης έχει βρεθεί ότι η υποκείμενη νευρωνική πλαστικότητα εμπλέκει την αύξηση της έκφρασης της συνολικής GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στον επικλινή πυρήνα (Churchill et al., 1999) αλλά και την αύξηση της συναπτικής έκφρασής της (Boudreau & Wolf, 2005). Ενδιαφέρον είναι το ότι σχετική πλαστικότητα των AMPA υποδοχέων αναφορικά με τη σύστασή τους από υπομονάδες στον επικλινή πυρήνα έχει βρεθεί και σε άλλες πτυχές του εθισμού όπως η ακαταμάχητη επιθυμία αναζήτησης της ουσίας (craving) (Carlezon & Thomas, 2008). Ακόμα, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι απόσυρση έπειτα από την ανάπτυξη συμπεριφορικής ευαισθητοποίησης στις ενισχυτικές δράσεις της κοκαΐνης οδηγεί σε μείωση της GluR1 πρωτεΐνης στα συναπτοσώματα (Ghasemzadeh et al., 2009). Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν τη σημαντική εμπλοκή της συναπτικής πλαστικότητας που σχετίζεται με τους AMPA υποδοχείς σε διεργασίες που εμπλέκουν δυσλειτουργία του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου.

Ωστόσο, αν και τα δεδομένα μας δείχνουν ότι η υποκείμενη της χρόνιας χορήγησης πλαστικότητα στο κοιλιακό ραβδωτό δε σχετίζεται με διακυμάνσεις στα επίπεδα της συνολικής GluR1 πρωτεΐνης, υποδεικνύουν ότι η ανάπτυξη

συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl μπορεί να σχετίζεται με διατάραξη της διακίνησης των AMPA υποδοχέων από και προς τη σύναψη. Αν και η μείωση της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ που οδηγεί στην ενδοκυττάρωσή τους φαίνεται να αποτελεί κοινό μηχανισμό δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης, μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl φαίνεται ότι αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹ από την CaMKII. Το γεγονός αυτό μπορεί να έχει μείζονες ανασταλτικές επιδράσεις στην κυτταρική διεγερσιμότητα καθώς σε μια ήδη «σιωπηλή» σύναψη η φωσφορυλίωση της GluR1 από την CaMKII είναι απαραίτητη για την ένθεση νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγεί εμμέσως σε αδυναμία πυροδότησης των νευρώνων του κοιλιακού ραβδωτού, οι οποίοι κωδικεύουν τόσο μηνύματα ενίσχυσης όσο και μηνύματα αποστροφής, καθώς μπορεί να είναι δύσκολη η εκπόλωση του νευρώνα έως το επίπεδο του ουδού πυροδότησης. Συμπερασματικά, η ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl μπορεί να σχετίζεται έμμεσα με τη σχετιζόμενη με τη συναπτική απουσία των AMPA υποδοχέων αδυναμία πυροδότησης των νευρώνων του κοιλιακού ραβδωτού, οι οποίοι κωδικεύουν τόσο μηνύματα αποστροφής όσο και ανηδονίας.



ΣΧΗΜΑ Σ6. Προτεινόμενο μοντέλο διακίνησης AMPA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης στο κοιλιακό ραβδωτό. Η αποφωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ οδηγεί στην ενδοκυττάρωση των μεμβρανικών AMPA υποδοχέων ενώ η αναστολή της δραστηριότητας της PKA που αναστέλλει την ίδια φωσφορυλίωση οδηγεί σε αδυναμία ένθεσης νέων AMPA υποδοχέων στη σύναψη. Ωστόσο σε συνάψεις που οι AMPA υποδοχείς παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση, η ένθεση νέων υποδοχέων στη σύναψη απαιτεί και τη φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹ από την CaMKII, η οποία αναστέλλεται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης. Η περαιτέρω αυτή μείωση της διαθεσιμότητας των AMPA υποδοχέων μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης LiCl.

(iii) **Μηχανισμοί συναπτικής πλαστικότητας.** Τα σταθεροποιητικά της διάθεσης έπειτα από χρόνια αλλά όχι οξεία χορήγηση, αναστέλλουν και τη διακίνηση των NMDA υποδοχέων προς τη σύναψη ενώ προάγουν και την ενδοκυττάρωσή τους. Αν και οι επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης παρουσιάζονται παρόμοιες ως προς την αποφωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας καθώς και της NR2B υπομονάδας στην Tyr¹⁴⁷², η χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης φαίνεται ότι μείωσε και την επαγόμενη από την CaMKII και την PKC φωσφορυλίωση της Ser¹³⁰³.

Επιπλέον, όπως προαναφέραμε, διαφορετικά σταθεροποιητικά της διάθεσης ρυθμίζουν τη διακίνηση και ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων μέσω μείωσης φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵, γεγονός που έχει σχετιστεί με τις αντιμανιακές τους δράσεις (Du et al., 2007; 2004; 2003). Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν μείωση της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸⁴⁵ έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης αλλά όχι σημαντική μείωση μετά την οξεία χορήγησή τους. Αποφωσφορυλίωση της GluR1 στη θέση αυτή από πρωτεϊνικές φωσφατάσες οδηγεί στην ανακύκλωση των GluR1 στα ενδοσώματα (Du et al., 2007). Αντίθετα, η ένθεση νέων AMPA υποδοχέων σε «σιωπηλές» συνάψεις απαιτεί την επαγόμενη από την CaMKII φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹, η οποία φαίνεται ότι αναστέλλεται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl αλλά όχι αριπιπραζόλης.

Τα δεδομένα αυτά στηρίζουν την υπόθεση της μείωσης της συναπτικής έκφρασης των συναπτικών AMPA και NMDA υποδοχέων μέσω της αναστολής της διακίνησής τους καθώς και μέσω μηχανισμών ενδοκυττάρωσης, γεγονός που οδηγεί στο φαινόμενο της LTD. Αν και η επαγωγή LTD φαίνεται ότι αποτελεί κοινό μηχανισμό δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης, η επαγόμενη από την CaMKII περαιτέρω μείωση της ένθεσης νέων AMPA/NMDA υποδοχέων στη «σιωπηλή» σύναψη στο κοιλιακό ραβδωτό φαίνεται ότι συμβάλει στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου όπως καταγράφησαν στο πρότυπο του ενδοκρνιακού αυτοερεθισμού.

ΠΙΝΑΚΑΣ Σ4.

Επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης στη φωσφορυλίωση των υπομονάδων των AMPA και NMDA υποδοχέων στο κοιλιακό ραβδωτό

ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ	ΘΕΣΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ LiCl	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ LiCl
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸³¹	-	↓
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸⁴⁵	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁶	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁷	↓	↓
NR2B (NMDA)	Ser ¹³⁰³	-	↓
NR2B (NMDA)	Tyr ¹⁴⁷²	-	↓

ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ	ΘΕΣΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ	ΟΞΕΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΡΙΠΙΠΡΑΖΟΛΗΣ	ΧΡΟΝΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΡΙΠΙΠΡΑΖΟΛΗΣ
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸³¹	-	-
GluR1 (AMPA)	Ser ⁸⁴⁵	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁶	-	↓
NR1 (NMDA)	Ser ⁸⁹⁷	↓	↓
NR2B (NMDA)	Ser ¹³⁰³	-	-
NR2B (NMDA)	Tyr ¹⁴⁷²	-	↓

2.3. Νευρωνική πλαστικότητα κυκλώματος ανταμοιβής. Ερευνητικά δεδομένα από μελέτες στον άνθρωπο και σε άλλα πρωτεύοντα έχουν συσχετίσει τη δραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής με νευρωνική δραστηριότητα στο κοιλιακό ραβδωτό και τον έσω προμετωπιαίο φλοιό (Hasler et al., 2006; Schultz, 2002). Έτσι, καταστάσεις που εμπλέκουν διαταραχές στην ομοίωση του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου εμπλέκουν τις περιοχές αυτές. Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η υποκείμενη πλαστικότητα των φλοιοραβδωτών συνάψεων ρυθμίζεται από τη δραστηριότητα του γλουταμινεργικού

και του ντοπαμινεργικού συστήματος (Nakano et al., 2010· Lu & Wolf, 1999· Lu et al., 1997).

Ο προμετωπιαίος φλοιός διαμεσολαβεί για ποικίλες λειτουργίες συμπεριλαμβανομένων των γνωσιακών και των σχετιζόμενων με την ενίσχυση, οι οποίες σχετίζονται και με την επαγωγή νευρωνικής πλαστικότητας. Η δραστηριότητα του προμετωπιαίου φλοιού έχει εμπλακεί στην παθοφυσιολογία των διαταραχών του συναισθήματος (Goto et al., 2010). Νεότερες κατευθύνσεις για την αντιμετώπιση καταστάσεων διαταραγμένης ομοιόστασης του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως ο εθισμός, στοχεύουν στην αξιοποίηση θεραπευτικών στρατηγικών που εμπλέκουν τις ανασταλτικές λειτουργίες του προμετωπιαίου φλοιού οι οποίες μπορεί να μειώσουν τις σχετιζόμενες με αυξημένο κίνδυνο (ρίσκο) συμπεριφορές (Perry et al., 2011). Επιπλέον, η μανιακή φάση της ΔΔ χαρακτηρίζει συμπεριφορές υψηλού κινδύνου καθώς και αυξημένη αναζήτηση ηδονικών ερεθισμάτων. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η ρύθμιση της ομαλοποίησης της δραστηριότητας του προμετωπιαίου φλοιού στους διπολικούς ασθενείς μπορεί να συμβάλει στην άμβλυνση της συμπτωματολογίας τους. Λαμβάνοντας υπόψη τις θεωρίες αυτές, τα δεδομένα της παρούσας διδακτορικής διατριβής μπορούν να ερμηνευθούν ως μείωση της διεγερτικής μηνυματοδότησης του προμετωπιαίου φλοιού και έτσι στο ευρύτερο αυτό πλαίσιο σχετίζουν τις θεραπευτικές δράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης με αύξηση της ανασταλτικής επίδρασης του –σε μεγάλο βαθμό- «ρυθμιστή» της δραστηριότητας του εγκεφάλου.

Όπως προαναφέραμε, ο προμετωπιαίος φλοιός κατέχει κεντρικό και «ενοποιητικό» ρόλο στη ρύθμιση της συμπεριφοράς (Sesack & Grace, 2010). Ωστόσο, παραμένει αμφιλεγόμενο κατά πόσον η λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού στον άνθρωπο και τον επίμυ είναι αντίστοιχη. Ανατομικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι ο έσω προμετωπιαίος φλοιός του επίμυ σχετίζεται τόσο με την πρόσθια έλικα του προσαγωγίου όσο και με το ραχιαίο-έξω προμετωπιαίο φλοιό στα πρωτεύοντα. Επιπλέον, πρόσφατες ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες σε επίμυες υπέδειξαν ότι η ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού του επίμυ κατά την προσδοκία της ενίσχυσης είναι ανάλογη με αυτή που παρατηρείται στην πρόσθια έλικα του προσαγωγίου στα πρωτεύοντα (Seamans et al., 2008). Έτσι φαίνεται ότι η μελέτη του προμετωπιαίου φλοιού του επίμυ μπορεί να μας παρέχει πληροφορίες

αναφορικά με το νευρωνικό υπόστρωμα της ενίσχυσης, που παρουσιάζει κάποια αντιστοιχία με τον άνθρωπο.

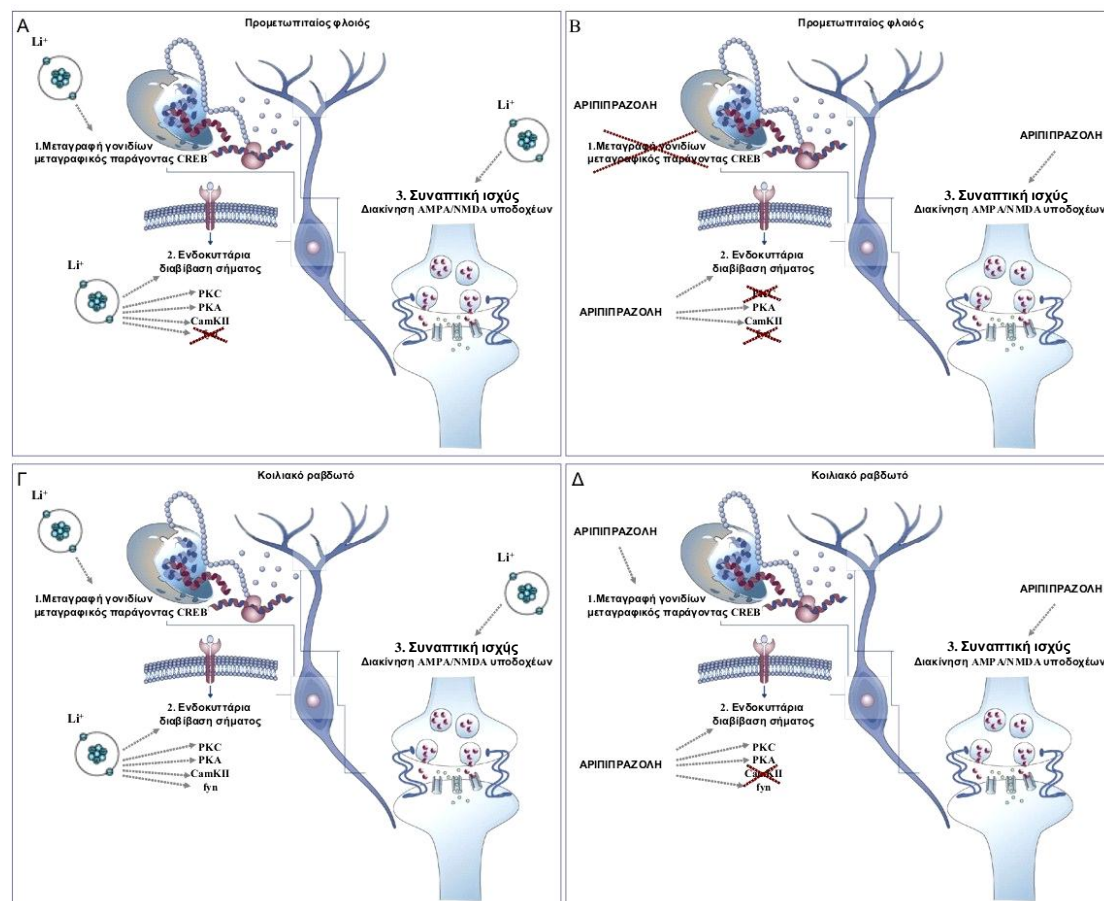
Τα αποτελέσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής υποδεικνύουν ότι τα σταθεροποιητικά της διάθεσης μειώνουν τα ρεύματα μέσω NMDA και AMPA υποδοχέων και επάγουν LTD στην περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού η οποία σχετίζεται με αναστολή της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸⁴⁵ από την PKA. Επιπλέον, η αναστολή της PKA ανέστειλε και την φωσφορυλίωση της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων στη Ser⁸⁹⁷, ενώ η αναστολή των PKC και CaMKII ανέστειλε τη φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³.

Αν και οι ενδοκυττάριοι μοριακοί μηχανισμοί δράσης του LiCl και οι επιδράσεις του στη διακίνηση AMPA/NMDA υποδοχέων έχουν εν μέρει μελετηθεί στο παρελθόν, δεν υπάρχουν σχετικές μελέτες για τους μηχανισμούς δράσης της αριπιπραζόλης. Υπάρχουν ωστόσο μελέτες που έχουν δείξει ότι η αριπιπραζόλη μειώνει την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος στον προμετωπιαίο φλοιό (Yang & Wang, 2008) αναστέλλοντας μ' αυτό τον τρόπο τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση. Η δράση αυτή της αριπιπραζόλης έχει δειχθεί ότι αναστρέφεται με την προ-χορήγηση αλοπεριδόλης ή του ανταγωνιστή των 5-HT_{1A} υποδοχέων WAY100635, γεγονός που υποδηλώνει ότι διαμεσολαβείται τόσο από τους D₂ όσο και από τους 5-HT_{1A} υποδοχείς, ενώ έχει βρεθεί ότι σχετίζεται και με τη δραστηριότητα της PKA (Yang & Wang, 2008).

Αν και οι μελέτες μας υπέδειξαν κάποιους κοινούς μηχανισμούς δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης στον προμετωπιαίο φλοιό, φαίνεται ότι μόνο η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στην περιοχή αυτή. Προγενέστερες *in vivo* μελέτες έδειξαν μείωση της έκφρασης γονιδίων που επάγονται από τον CREB καθώς και μείωση της φωσφορυλίωσής του έπειτα από τη χρόνια αλλά όχι την οξεία χορήγηση LiCl στον φλοιό, τον ιππόκαμπο, τον υποθάλαμο καθώς και το ραβδωτό. Τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση του CREB επηρεάζεται περισσότερο σε περιοχές που εμπλέκονται στο συναίσθημα και την κινητοποίηση (Böer et al., 2008). Επιπρόσθετες μελέτες με cDNA μικροσυστοιχίες (microarrays) έδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση λιθίου οδηγεί στη μείωση της έκφρασης 50 γονιδίων που κωδικεύουν

υποδοχείς, πρωτεϊνικές κινάσες, μεταγραφικούς και μεταφραστικούς παράγοντες, δείκτες ενεργειακού μεταβολισμού και ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος (Bosetti et al., 2002).

Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με τα δικά μας δεδομένα που υποδεικνύουν μείωση της ενεργοποίησης του CREB έπειτα από χρόνια αλλά όχι οξεία χορήγηση και εμπλέκουν τη ρύθμιση της δραστηριότητάς του στη νευρωνική πλαστικότητα που σχετίζεται με τη χρόνια χορήγηση LiCl. Επιπλέον, καθώς φαίνεται ότι οι μεταγραφικές διεργασίες και τα μονοπάτια που μπορεί να επηρεάζονται από τον CREB είναι πολλά, υποθέτουμε ότι αν και κάποια από αυτά εμπλέκονται στην άσκηση των θεραπευτικών του δράσεων, στην ανάπτυξη αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του φαρμάκου μπορεί να συμβάλει η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης άλλων.



ΣΧΗΜΑ Σ7. Νευρωνική πλαστικότητα κυκλώματος ανταμοιβής έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Νευρωνική πλαστικότητα στον προμετωπιαίο φλοιό (πάνω). Νευρωνική πλαστικότητα στο κοιλιακό ραβδωτό (κάτω).

Πρόσφατες νευροαπεικονιστικές μελέτες στον άνθρωπο υποδεικνύουν ότι ο επικλινής πυρήνας ενεργοποιείται παρουσία τόσο θετικών όσο και αρνητικών ενισχυτών σε διάφορα στάδια επεξεργασίας της ενίσχυσης (προσδοκία, αποτέλεσμα, αξιολόγηση κ.τ.λ.). Αντίθετα, ο έσω κογχικο-μετωπιαίος φλοιός φαίνεται ότι ενεργοποιείται μόνο παρουσία θετικών ενισχυτών, ενώ ο έξω προμετωπιαίος φλοιός φαίνεται ότι ενεργοποιείται παρουσία αρνητικών ενισχυτών (Liu et al., 2011).

Καθώς το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο παρουσιάζει την ίδια ενεργοποίηση τόσο παρουσία ενισχυτικών ερεθισμάτων όσο και παρουσία αποστροφικών ερεθισμάτων, ο επικλινής πυρήνας φαίνεται ότι χαρακτηρίζεται από την ικανότητα ολοκλήρωσης των διεγερτικών και ανασταλτικών μηνυμάτων για τον προσδιορισμό του σθένους και τη ρύθμιση του συναισθήματος (Carlezon & Thomas, 2008).

Ο επικλινής πυρήνας, που αποτελεί τμήμα του κοιλιακού ραβδωτού, διαχωρίζεται σε δύο μοίρες: τον κορμό και το κέλυφος. Όπως και το ραχιαίο ραβδωτό, ο επικλινής πυρήνας περιέχει GABAεργικούς μεσαίου μεγέθους ακανθωτούς νευρώνες που αποτελούν το 90-95% των συνολικών νευρώνων του επικλινούς πυρήνα, ενώ οι υπόλοιποι νευρώνες είναι χολινεργικοί και GABAεργικοί διάμεσοι νευρώνες. Δέχεται απαγωγούς νευρικές ντοπαμινεργικές ίνες από το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο του μέσου εγκεφάλου, ενώ δέχεται και διεγερτική γλουταμινεργική εννεύρωση από τον προμετωπιαίο φλοιό, την αμυγδαλή και τον υπόκαμπο, γεγονός που συμβάλει στην μετατροπή της κινητοποίησης σε δράση. Επιπροσθέτως, φαίνεται ότι οι καταστάσεις ενίσχυσης-ανταμοιβής και αποστροφής-δυσφορίας (aversive) κωδικοούνται από τη δραστηριότητα των μεσαίου μεγέθους ακανθωτών GABAεργικών νευρώνων στον επικλινή πυρήνα όπου ενισχυτικά ερεθίσματα μειώνουν τη δραστηριότητά τους ενώ αποστροφικά ερεθίσματα την αυξάνουν (Carlezon & Thomas, 2009).

Οι περιοχές του κοιλιακού ραβδωτού διαχωρίζονται σε δύο διακριτά μονοπάτια, αυτό της άμεσης και αυτό της έμμεσης οδού. Το άμεσο μονοπάτι των μεσαίου μεγέθους ακανθωτών νευρώνων εκφράζει κυρίως τους D₁ υποδοχείς και το ενδογενές οπιοειδές πεπτίδιο δυνορφίνη και προβάλλει άμεσα στη μέλαινα ουσία και το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο στο μεσεγκέφαλο. Αντίθετα, το έμμεσο μονοπάτι εκφράζει κυρίως D₂ υποδοχείς καθώς και το ενδογενές οπιοειδές πεπτίδιο εγκεφαλίνη και προβάλλει στην κοιλιακή ωχρά σφαίρα και τον υποθαλάμιο πυρήνα. Ως γνωστόν η ντοπαμίνη δρώντας στους D₁ υποδοχείς διεγείρει το ένζυμο αδενολική κυκλάση με αποτέλεσμα τη διέγερση του άμεσου μονοπατιού των μεσαίου μεγέθους ακανθωτών

νευρώνων. Η αυξημένη δραστηριότητα των νευρώνων αυτών ουσιαστικά σχετίζεται με αυξημένη GABAεργική δραστηριότητα και απελευθέρωση GABA και δυνορφίνης στα ντοπαμινεργικά κύτταρα του μέσου εγκεφάλου, ενώ αντίθετα θα είναι τα αποτελέσματα της διέγερσης των D₂ υποδοχέων και του έμμεσου μονοπατιού (Carlezon & Thomas, 2009).

Πλην των βασικών αυτών χαρακτηριστικών των μεσαίου μεγέθους ακανθωτών νευρώνων, οι νευρώνες αυτοί χαρακτηρίζονται και από την παρουσία AMPA και NMDA υποδοχέων οι οποίοι ευωδώνουν την μηνυματοδότηση που προέρχεται από γλουταμινεργικές προσαγωγούς ίνες της αμυγδαλής, του υπόκαμπου και του προμετωπιαίου φλοιού, οι οποίες ενεργοποιούν τους μεσαίου μεγέθους ακανθωτούς νευρώνες (Carlezon & Thomas, 2008).

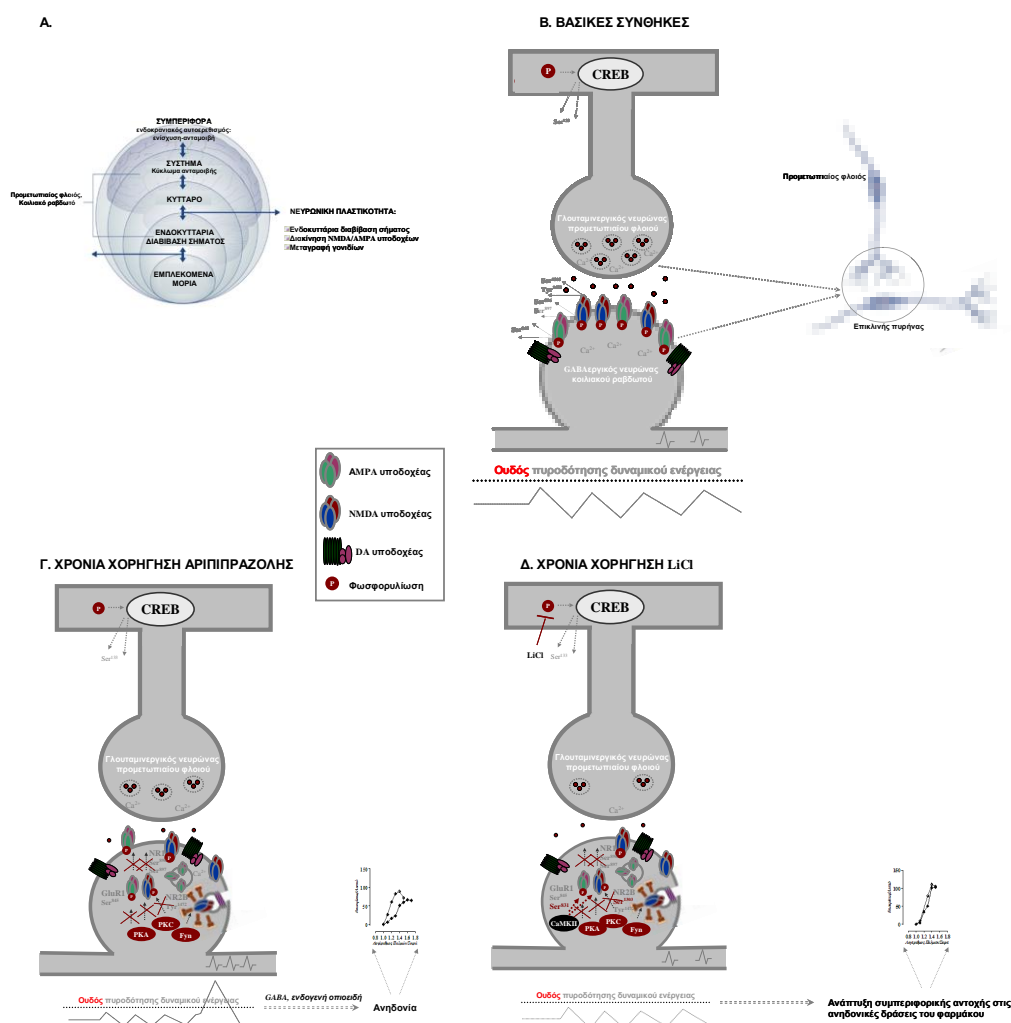
Έτσι φαίνεται ότι στο επίπεδο του επικλινούς πυρήνα ντοπαμινεργικό και γλουταμινεργικό σύστημα αλληλεπιδρούν. Η διέγερση των D₁ υποδοχέων οδηγεί σε φωσφορυλίωση των AMPA και NMDA υποδοχέων, ρυθμίζοντας τη συναπτική τους έκφραση. Ο επικλινής πυρήνας εμπλέκεται στην ολοκλήρωση πολύπλοκων διεγερτικών γλουταμινεργικών λειτουργιών καθώς και διεγερτικής ντοπαμινεργικής δραστηριότητας μέσω D₁ υποδοχέων ή ανασταλτικής ντοπαμινεργικής δραστηριότητας μέσω D₂ υποδοχέων (Carlezon & Thomas, 2008; Sun et al., 2008).

Με βάση τα παραπάνω, προτείνουμε το παρακάτω μοντέλο πλαστικότητας του κυκλώματος ανταμοιβής (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ9). Τα σταθεροποιητικά της διάθεσης, LiCl και αριπιπραζόλη, μειώνουν τα ρεύματα μέσω NMDA/AMPA υποδοχέων μειώνοντας την εκπόλωση των γλουταμινεργικών νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού με συνακόλουθη μείωση της απελευθέρωσης γλουταμινικού στις συνάψεις που σχηματίζουν με τους νευρώνες του επικλινούς πυρήνα. Επιπλέον, η αναστολή της δραστηριότητας των PKA, PKC και Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό μειώνει την ένθεση νέων NMDA υποδοχέων στη σύναψη ενώ προάγει την ενδοκυττάρωσή τους. Η αναστολή ωστόσο της PKA διαμεσολαβεί και για την ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων μέσω μείωσης των φωσφορυλιωμένων GluR1 υπομονάδων στη Ser⁸⁴⁵ επάγοντας LTD. Παρ' όλη την αναστολή των ρευμάτων μέσω NMDA/AMPA υποδοχέων, οι GABAεργικοί νευρώνες του επικλινούς πυρήνα φαίνεται ότι συνεχίζουν να εκπολώνονται επαρκώς, μέσω άλλων παρεμβαλλόμενων μηχανισμών, με αποτέλεσμα την πυροδότησή τους και την απελευθέρωση GABA και ενδογενών οπιοειδών. Το γεγονός αυτό αντικατοπτρίζεται ως ανηδονία στο πρότυπο του

ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, όπως παρατηρήσαμε έπειτα και από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ9Γ).

Ωστόσο, η χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε περαιτέρω τα ρεύματα μέσω NMDA υποδοχέων, όπως υποδεικνύεται από τη μείωση της CaMKII και PKC εξαρτώμενης φωσφορυλίωσης της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³. Επιπλέον, η χρόνια χορήγηση LiCl ανέστειλε την επαγόμενη από την CaMKII φωσφορυλίωση της GluR1 υπομονάδας στη Ser⁸³¹, η οποία είναι απαραίτητη για την ένθεση νέων AMPA υποδοχέων στις «σιωπηλές» συνάψεις. Η περαιτέρω αυτή μείωση των ρευμάτων των NMDA/AMPA πιστεύουμε ότι έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία επαρκούς εκπόλωσης των νευρώνων του κοιλιακού ραβδωτού. Καθώς, οι νευρώνες αυτοί δεν προσεγγίζουν τον ουδό πυροδότησης δυναμικού ενέργειας, αδυνατούν να κωδικούσουν ανηδονικά ερεθίσματα το οποίο μεταφράζεται ως ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ9Δ).

3. Γενική συζήτηση συμπεράσματα. Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στην έρευνα γύρω από την παθοφυσιολογία της ΔΔ, το ακριβές νευροβιολογικό υπόστρωμά της δεν έχει μέχρι σήμερα διαλευκανθεί. Σύγχρονες θεωρήσεις καταρρίπτουν υποθέσεις δυσλειτουργίας ενός απλού νευροδιαβιβαστικού συστήματος και κατατάσσουν τις διαταραχές του συναισθήματος στο ευρύτερο πλαίσιο των ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με ελλείμματα στη νευρωνική πλαστικότητα καθώς και δυσλειτουργίες πολύπλοκων ενδοκυττάρων διαβιβαστικών κυκλωμάτων. Επιπλέον, η μεγάλη ετερογένεια ως προς τη συμπτωματολογία της νόσου καθώς και η απουσία μοντέλων σε πειραματόζωα που να αντικατοπτρίζουν το πλήρες φάσμα της διαταραχής φαίνεται ότι αποτελούν τροχοπέδη στην κατανόηση των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών καθώς και των θεραπευτικών μηχανισμών δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης. Έτσι, νεότερες θεωρήσεις στη σύγχρονη έρευνα προσβέβουν τη μελέτη συγκεκριμένων πτυχών της διαταραχής (ενδοφαινότυποι), που σχετίζονται με πιο εστιασμένες δυσλειτουργίες στο επίπεδο του ΚΝΣ με σκοπό την καλύτερη κατανόηση πτυχών της ΔΔ.



ΣΧΗΜΑ Σ9. Προτεινόμενο μοντέλο ανάπτυξης συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl έπειτα από τη χρόνια χορήγησή του. Πολλαπλά επίπεδα διεργασιών ανταμοιβής του εγκεφάλου που μελετήθηκαν και συμβάλλουν στην ανάπτυξη του προτεινόμενου μοντέλου πλαστικότητας (Α). Το κοιλιακό ραβδωτό θεωρείται ότι συμβάλει στην κωδίκευση ενισχυτικών και αποστροφικών ερεθισμάτων. Αποτελείται από μεσαίου μεγέθους ακανθωτούς GABAεργικούς/εγκεφαλινεργικούς νευρώνες η πυροδότηση των οποίων οδηγεί στην απελευθέρωση GABA και ενδογενών οπιοειδών έχοντας ως συμπεριφορικό αποτέλεσμα την αναστολή της ενίσχυσης και την αύξηση της αποστροφής. Οι νευρώνες αυτοί δέχονται γλουταμινεργική εννεύρωση από τον προμετωπιαίο φλοιό (Β). Η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης, συμπεριλαμβανομένης της αριπιπραζόλης μειώνει τα ρεύματα μέσω NMDA και AMPA υποδοχέων στο φλοιό ενώ επάγει LTD. Η επαγωγή της LTD μπορεί να μειώσει την διεγερσιμότητα του νευρώνα καθώς και τη συνακόλουθη απελευθέρωση γλουταμινικού από τις προσυναπτικές απολήξεις των γλουταμινεργικών νευρώνων. Ταυτόχρονα η αναστολή ποικίλων ενδοκυττάριων μονοπατιών συμπεριλαμβανομένης της PKA, PKC και Fyn στο κοιλιακό ραβδωτό μειώνει την ένθεση νέων NMDA και AMPA υποδοχέων στη σύναψη ενώ προάγει την ενδοκυττάρωσή τους

επάγοντας LTD. Ωστόσο, με βάση το συμπεριφορικό μας φαινότυπο, όπου ακόμα και στις συνθήκες αυτές παρατηρήσαμε ανηδονία, υποθέτουμε ότι οι νευρώνες του κοιλιακού ραβδωτού εκπολώνονται επαρκώς, ενδεχομένως παρουσία και άλλων παρεμβαλλόμενων μηχανισμών, με αποτέλεσμα την ικανότητα εκπυρσοκρότησης δυναμικού ενέργειας και την απελευθέρωση ενδογενών οπιοειδών και GABA (Γ). Η χρόνια χορήγηση LiCl προκάλεσε ταυτόσημες με την αριπιπραζόλη δράσεις ασκώντας ωστόσο μεγαλύτερη αναστολή στα NMDA εξαρτώμενα ρεύματα μέσω της αναστολής της φωσφορυλίωσης της Ser¹³⁰³ από τις CaMKII και PKC. Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής θεωρούμε ότι κατέχει η CaMKII καθώς η δραστηριότητά της φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για την ένθεση νέων AMPA υποδοχέων στις «σιωπηλές» συνάψεις. Έτσι, η περαιτέρω αυτή αναστολή των NMDA/AMPA ρευμάτων των GABAεργικών νευρώνων υποθέτουμε ότι οδήγησε σε περαιτέρω μείωση της εκπόλωσης και αδυναμία επίτευξης του ουδού πυροδότησης με συνακόλουθη αδυναμία μεταφοράς ανηδονικών μηνυμάτων και την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής. Σημαντική συμβολή στην ανάπτυξη του συμπεριφορικού μας φαινοτύπου θεωρούμε ότι κατέχει και η αναστολή της ενεργοποίησης του CREB στον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό καθώς και η συνακόλουθη καταστολή της έκφρασης γονιδίων. Παρ' όλα αυτά αυτός ο ακριβής υποκείμενος μηχανισμός παραμένει άγνωστος (Δ).

Βασισμένη στις θεωρήσεις αυτές, η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως στόχο την ανάπτυξη ενός μοντέλου για τη μελέτη του ενδοφαινότυπου της διαταραχής του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου κατά τη μανιακή φάση της ΔΔ, αξιοποιώντας το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στον επίμυ. Πιο συγκεκριμένα, μελετήσαμε τις επιδράσεις που έχει η οξεία και η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού αλλά και στην ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό.

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση της ΔΔ χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: λίθιο, αντιεπιληπτικά και αντιψυχωσικά. Επιλέξαμε να μελετήσουμε ένα αντιπροσωπευτικό φάρμακο από όλες τις κατηγορίες καταλήγοντας στο LiCl, το VPA και την αριπιπραζόλη ένα νεότερο άτυπο αντιψυχωσικό με ιδιαίτερο και ξεχωριστό φαρμακολογικό προφίλ. Επιπροσθέτως, μελετήσαμε τις επιδράσεις της συγχορήγησης μη δραστικών δόσεων LiCl και VPA καθώς αυτός ο συνδυασμός αποτελεί στην κλινική πράξη μια συχνά χρησιμοποιούμενη φαρμακοθεραπεία για τους διπολικούς ασθενείς.

Σύμφωνα με τα ευρήματα των μελετών μας, η οξεία χορήγηση μεγάλων δόσεων όλων των σταθεροποιητικών της διάθεσης που μελετήσαμε αύξησε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, γεγονός που υποδηλώνει ανηδονικές δράσεις. Ωστόσο, μόνο η οξεία χορήγηση LiCl, LiCl & VPA και αριπιπραζόλης, αλλά όχι VPA, ανέστειλε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι όλα τα σταθεροποιητικά επιδεικνύουν αντιμανιακές δράσεις στο πρότυπο αυτό, αλλά το VPA φαίνεται να είναι λιγότερο αποτελεσματικό ως προς την αντιμετώπιση συμπεριφορών που προσομοιάζουν στην οξεία μανία. Τα ευρήματα αυτά συνάδουν και με κλινικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι θεραπείες με περισσότερα από ένα σταθεροποιητικά της διάθεσης είναι αποτελεσματικότερες σε σχέση με τη μονοθεραπεία. Επιπλέον, τα δεδομένα μας στηρίζουν την υπόθεση ότι το λίθιο και η αριπιπραζόλη είναι αποτελεσματικότερα κατά τη μανιακή φάση της ΔΔ ενώ το βαλπροϊκό φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερο κατά την καταθλιπτική φάση της ΔΔ. Συμπερασματικά, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης στηρίζουν την εγκυρότητα και την αξιοπιστία του μοντέλου μας παρέχοντάς μας ένα χρήσιμο εργαλείο για την ταυτοποίηση νέων και ενδεχομένως πιο εκλεκτικών φαρμάκων τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία τουλάχιστον της υποκατηγορίας των διπολικών ασθενών που χαρακτηρίζονται από δυσλειτουργία της του κυκλώματος ανταμοιβής (π.χ. ευφορικοί διπολικοί ασθενείς ή διπολικοί ασθενείς που κάνουν παράλληλα κατάχρηση εθιστικών ουσιών) .

Στην τρίτη μελέτη των συμπεριφορικών μας πειραμάτων μελετήσαμε τις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού έπειτα από χρόνια χορήγηση. Τα ευρήματά μας αν και μη αναμενόμενα κρίνονται ενδιαφέροντα και υπήρξαν το ερέθισμα για τη διενέργεια μοριακών μελετών προκειμένου να κατανοήσουμε το υποκείμενο υπόστρωμά τους. Πιο συγκεκριμένα, δείξαμε ότι τόσο η χρόνια χορήγηση LiCl όσο και η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA οδήγησε στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις των φαρμάκων, ενώ η χρόνια χορήγηση VPA και αριπιπραζόλης επέδειξε σταθερή ανηδονική δράση στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Τέλος, στην τέταρτη συμπεριφορική μας μελέτη όπου αξιοποιήσαμε και πάλι το φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας, δείξαμε ότι η χρόνια προ-χορήγηση LiCl και η χρόνια προ-χορήγηση συνδυασμού LiCl και VPA, αντίθετα από την οξεία χορήγησή τους δεν ανέστειλαν την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Τα ευρήματα αυτά πιστεύουμε ότι σχετίζονται με την

ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις των φαρμάκων. Επιπρόσθετα, η χρόνια προ-χορήγηση VPA δεν επηρέασε τις ενισχυτικές δράσεις της αμφεταμίνης. Τέλος, η χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης, ανέστειλε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης αναδεικνύοντας το φάρμακο αυτό ως το αποτελεσματικότερο στην αντιμετώπιση του συγκεκριμένου ενδοφαινότυπου μανιακής συμπεριφοράς μετά από χρόνια χορήγηση.

Βασιζόμενοι στα παραπάνω ευρήματα επιλέξαμε στη συνέχεια να πραγματοποιήσουμε μια σειρά πειραμάτων για τη διαλεύκανση των νευροπροσαρμοστικών αλλαγών που προκαλούνται στο κύκλωμα ανταμοιβής μετά από τη χρόνια χορήγηση LiCl και να τις συγκρίνουμε με τις αντίστοιχες μετά από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης. Αξίζει να αναφέρουμε ότι η αριπιπραζόλη αποτελεί ένα νέο φάρμακο με ιδιαίτερα ενδιαφέρον φαρμακολογικό προφίλ και οι επιδράσεις σε μοριακό επίπεδο δεν έχουν προσδιοριστεί επαρκώς. Βασιζόμενοι στην υπόθεση της νευρωνικής πλαστικότητας των εν λόγω συναισθηματικών διαταραχών επιλέξαμε να μελετήσουμε πιθανές αλλαγές σε δύο από τις μείζονες περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής: τον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό. Με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία επιλέξαμε να μελετήσουμε, πρώτον, ενδεχόμενες επιδράσεις στη μεταγραφή γονιδίων μελετώντας τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Δεύτερον, μελετήσαμε την ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος μέσω των μονοπατιών της PKA, PKC, CaMKII και Fyn μελετώντας τη φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων τους. Τρίτον, μελετήσαμε τη σχετιζόμενη με τους NMDA και AMPA υποδοχείς συναπτική πλαστικότητα μελετώντας την διακίνησή τους η οποία ρυθμίζεται από κρίσιμες φωσφορυλιώσεις. Η τελευταία υπόθεσή μας βασίστηκε στο γεγονός ότι οι συνάψεις του ΚΝΣ χαρακτηρίζονται από μεγάλη πλαστικότητα ενώ μακροχρόνιες αλλαγές στη συναπτική διαβίβαση συμβάλλουν στην ανάπτυξη συναπτικής πλαστικότητας (Zhuo, 2009). Επιπλέον, αλλαγές στη συναπτική πλαστικότητα έχουν σχετιστεί με διαταραχές στην ομοιόσταση του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως στον εθισμό. Εκτός αυτού, όλο και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η σχετιζόμενη με το γλουταμινεργικό σύστημα συναπτική πλαστικότητα μπορεί να εμπλέκεται στη θεραπεία των διαταραχών του συναισθήματος (Du et al., 2007· 2004· 2003).

Τα αποτελέσματα των μοριακών μας μελετών υποδεικνύουν ότι οι ανηδονικές δράσεις της οξείας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης σχετίζονται με την αναστολή της δραστηριότητας της PKA στο κοιλιακό ραβδωτό, όπως υποδεικνύεται από τη

μείωση της φωσφορυλίωσης της Ser⁸⁹⁷ της NR1 υπομονάδας των NMDA υποδοχέων. Αξίζει να αναφέρουμε ότι η PKA αναστέλλεται έπειτα από τη διέγερση των D₂ υποδοχέων. Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με ένα προτεινόμενο μοντέλο που δίνει έμφαση στον κεντρικό ρόλο του επικλινή πυρήνα στην κωδίκευση αποστροφικών/δυσφορικών καταστάσεων. Στην περιοχή αυτή, ο εμπλεκόμενος πληθυσμός GABAεργικών νευρώνων εκφράζει D₂ υποδοχείς και εγκεφαλίνη και οδηγεί σε αναστολή των μονοπατιών που εμπλέκονται στην ενίσχυση (π.χ. κοιλιακή ωχρά σφαίρα), κωδικεύοντας την αποστροφή και ανηδονία (Carlezon & Thomas, 2005).

Τα μοριακά μας ευρήματα αναφορικά με τις επιδράσεις των χρόνιων χορηγήσεων LiCl και αριπιπραζόλης ανέδειξαν κάποιους κοινούς μηχανισμούς δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης στο κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου. Πιο συγκεκριμένα, δείξαμε ότι έπειτα από χρόνια χορήγηση τα σταθεροποιητικά της διάθεσης αναστέλλουν τη δραστικότητα της PKA στον προμετωπιαίο φλοιό και το κοιλιακό ραβδωτό και επάγουν LTD η οποία σχετίζεται με αναστολή της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸⁴⁵ από την PKA. Επιπλέον, φαίνεται ότι η χρόνια χορήγησή τους οδηγεί και σε αναστολή των ρευμάτων μέσω NMDA υποδοχέων στον προμετωπιαίο φλοιό καθώς αναστέλλουν την ένθεση νέων υποδοχέων μέσω αναστολής της φωσφορυλίωσης της NR1 υπομονάδας από την PKA αλλά και της NR2B υπομονάδας μέσω αναστολής των PKC και CaMKII.

Στο κοιλιακό ραβδωτό, πέραν των μηχανισμών που προαναφέραμε, η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης μειώνει τα εξαρτώμενα από τους NMDA υποδοχείς ρεύματα τόσο μέσω μείωσης των φωσφορυλιώσεων που επάγουν την ένθεση νέων υποδοχέων στη σύναψη όσο και μέσω αποφωσφορυλίωσης της κρίσιμης για την ενδοκυττάρωσή τους Tyr¹⁴⁷² της NR2B υπομονάδας. Οι σημαντικές αυτές φωσφορυλιώσεις εξαρτώνται από τη δραστικότητα των PKA, PKC και Fyn οι οποίες αναστέλλονται από τη χρόνια χορήγηση LiCl και αριπιπραζόλης. Επιπλέον, δείξαμε ότι η χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης μείωσε την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα CREB στην κρίσιμη για συναισθηματικές διεργασίες περιοχή του κοιλιακού ραβδωτού. Ο βαθμός στον οποίο τα δεδομένα αυτά αντικατοπτρίζονται στο συμπεριφορικό μας φαινότυπο δεν μπορεί να προσδιοριστεί. Μελλοντικές μελέτες εκλεκτικής ρύθμισης του εκάστοτε μοριακού στόχου θα μπορούσαν να συμβάλλουν στον προσδιορισμό της συμβολής του στη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ωστόσο, εικάζουμε ότι παρ' όλη την ύπαρξη

νευρωνικής πλαστικότητας σε πολλαπλά επίπεδα και τη μείωση των διεγερτικών ρευμάτων μέσω NMDA και AMPA υποδοχέων έπειτα από τη χρόνια χορήγηση σταθεροποιητικών οι νευρώνες του κοιλιακού ραβδωτού που κωδικεύουν αποστροφικά ερεθίσματα συνεχίζουν να έχουν την ικανότητα εκπόλωσης. Η εκπόλωσή τους οδηγεί στην απελευθέρωση νέων ποσοτήτων νευροδιαβιβαστών που κωδικεύουν την ανηδονία όπως καταγράφηκε στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αριπιπραζόλης (Βλ. ΣΧΗΜΑ Σ9B).

Ωστόσο, επιπρόσθετοι μηχανισμοί που οδηγούν στην περαιτέρω μείωση των ρευμάτων μέσω NMDA και AMPA υποδοχέων πιστεύουμε ότι σχετίζονται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές επιδράσεις του LiCl έπειτα από τη χρόνια χορήγησή του. Σημαντική εμπλοκή φαίνεται ότι κατέχει η CaMKII, της οποίας η αναστολή μπορεί να είναι είτε άμεση είτε να διαμεσολαβείται από τη μείωση των ιόντων Ca^{2+} . Πιο συγκεκριμένα δείξαμε ότι χρόνια χορήγηση LiCl μείωσε την εξαρτώμενη από την CaMKII φωσφορυλίωση της NR2B υπομονάδας στη Ser¹³⁰³ η οποία σχετίζεται με μείωση των ρευμάτων μέσω NMDA υποδοχέων. Κομβικό σημείο στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής φαίνεται ότι αποτελεί και η μείωση της φωσφορυλίωσης της GluR1 υπομονάδας των AMPA υποδοχέων στη Ser⁸³¹ από την CaMKII φωσφορυλίωση η οποία φαίνεται να είναι απαραίτητη για την ένθεση νέων AMPA υποδοχέων στις «σιωπηλές» συνάψεις. Τα δεδομένα αυτά εικάζουμε ότι οδηγούν στην αδυναμία επαρκούς εκπόλωσης των νευρώνων του κοιλιακού ραβδωτού έχοντας ως απώτερο αποτέλεσμα την αδυναμία κωδίκευσης ανηδονικών ερεθισμάτων και την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής όπως παρατηρήσαμε στο πρότυπο ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Τέλος, θα πρέπει να επισημάνουμε ότι σημαντική συμβολή στο συμπεριφορικό αυτό φαινότυπο φαίνεται να κατέχει και η μείωση της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα CREB και η συνακόλουθη καταστολή της γονιδιακής έκφρασης τόσο στον προμετωπιαίο φλοιό όσο και στο κοιλιακό ραβδωτό. Πολλά ερευνητικά δεδομένα στηρίζουν την υπόθεση ότι διαταραχές στην ενεργοποίησή του CREB μπορεί να σχετίζονται με συμπεριφορές που εμπλέκουν διαταραγμένη ομοιόσταση του κυκλώματος ανταμοιβής. Ωστόσο, οι ακριβείς υποκείμενοι μηχανισμοί δεν είναι γνωστοί και αποτελούν ερέθισμα για μελλοντικές μελέτες.

Τα δεδομένα της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελούν την πρώτη προσπάθεια χαρακτηρισμού των επιδράσεων των σταθεροποιητικών της διάθεσης στη δραστηριότητα του κυκλώματος ανταμοιβής τόσο σε συμπεριφορικό όσο και σε

επίπεδο νευρωνικής πλαστικότητας. Επιπροσθέτως, αν και οι νευροχημικές επιδράσεις του LiCl είχαν κατά το παρελθόν μελετηθεί σε άλλες κυρίως περιοχές του εγκεφάλου, με τη μελέτη μας αυτή γίνεται η πρώτη προσπάθεια χαρακτηρισμού των επιδράσεων του νέου άτυπου αντιψυχωσικού αριπιπραζόλη σε ποικίλα ενδοκυττάρια μονοπάτια, στην διακίνηση των NMDA και AMPA υποδοχέων καθώς και στην ρύθμιση μεταγραφικών διεργασιών.

Συμπερασματικά, τόσο η ΔΔ όσο και η δράση των σταθεροποιητικών της διάθεσης φαίνεται ότι υπόκεινται πολλών αλληλένδετων νευρωνικών μηχανισμών πλαστικότητας και δεν μπορούν να ειδωθούν υπό το πρίσμα μιας απλής δυσλειτουργίας ενός νευροδιαβιβαστικού συστήματος. Πολλαπλά και πολύπλοκα ενδοκυττάρια μονοπάτια πλήττονται στη ΔΔ ενώ τα σταθεροποιητικά της διάθεσης ασκούν τις θεραπευτικές τους δράσεις μέσω αντιροπιστικών νευρωνικών μηχανισμών πλαστικότητας. Στο ευρύτερο αυτό πλαίσιο θα πρέπει να συμπεριληφθεί και η σημαντική ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας από τα σταθεροποιητικά της διάθεσης η οποία φαίνεται να είναι NMDA/AMPA-εξαρτώμενη και να σχετίζεται με την επαγωγή LTD σε μείζονες περιοχές για τις συναισθηματικές λειτουργίες όπως το κοιλιακό ραβδωτό και ο προμετωπιαίος φλοιός. Επιπλέον, η ρύθμιση της γονιδιακής μεταγραφής φαίνεται ότι αποτελεί έναν ακόμα κοινό μηχανισμό των σταθεροποιητικών της διάθεσης μέσω του οποίου ρυθμίζουν τις διαταραχές στη νευρωνική πλαστικότητα που παρατηρούνται στη ΔΔ.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή προτείνει ένα νέο φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο για τη μελέτη του ενδοφαινότυπου της διαταραγμένης ομοιόστασης του κυκλώματος ανταμοιβής που παρατηρείται στη ΔΔ κατά τη μανιακή φάση. Δείξαμε για πρώτη φορά ότι όλα τα σταθεροποιητικά της διάθεσης προκαλούν ανηδονία ενώ η χρόνια χορήγηση LiCl οδηγεί στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του. Τα δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι αν και όλα τα σταθεροποιητικά της διάθεσης που χρησιμοποιήσαμε παρουσιάζουν αντιμανιακές δράσεις στο φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας που χρησιμοποιήσαμε, η αριπιπραζόλη αναδεικνύεται αποτελεσματικότερη όλων έπειτα από τη χρόνια χορήγησή της, γεγονός που πιθανώς σχετίζεται με το προφίλ μερικού αγωνιστή του φαρμάκου. Επιπροσθέτως, η παρούσα διατριβή μας παρέχει μια σειρά νέων δεδομένων αναφορικά με τις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στη νευρωνική πλαστικότητα του κυκλώματος ανταμοιβής, υποδεικνύοντας κοινούς μηχανισμούς ρύθμισης μεταγραφικών διεργασιών, συναπτικής πλαστικότητας και

ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος. Σε κάθε περίπτωση ο βαθμός στον οποίο τα δεδομένα μας αντικατοπτρίζουν αντίστοιχες καταστάσεις στον κλινικό πληθυσμό πρέπει να προσδιοριστεί μελλοντικά.

Εν κατακλείδι, η παρούσα διδακτορική διατριβή προτείνει ένα νέο συμπεριφορικό μοντέλο για την μελέτη της διαταραγμένης ομοιόστασης του κυκλώματος ανταμοιβής στην ΔΔ, προτείνει βιο-δείκτες όπως η επαγωγή LTD στο κοιλιακό ραβδωτό και τον προμετωπιαίο φλοιό ως χρήσιμα «εργαλεία» ταυτοποίησης νέων εκλεκτικών φαρμακοθεραπειών για τη ΔΔ ενώ εντάσσει τη ΔΔ στο ευρύτερο πλαίσιο των διαταραχών του ΚΝΣ που υπόκεινται ελλειμμάτων νευρωνικής πλαστικότητας.

Z. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Διπολική Διαταραχή (ΔΔ) είναι μια χρόνια υποτροπιάζουσα διαταραχή του συναισθήματος, η οποία χαρακτηρίζεται από κυκλικές εναλλαγές καταθλιπτικών και μανιακών επεισοδίων. Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στον τομέα της έρευνας τα τελευταία χρόνια, το ακριβές νευροβιολογικό υπόστρωμα της διαταραχής καθώς και ο θεραπευτικός μηχανισμός δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης δεν έχει ακόμα διαλευκανθεί. Οι σύγχρονες θεωρίες πρεσβεύουν ότι οι συναισθηματικές διαταραχές, που έχουν σε μεγάλο βαθμό γενετικό υπόστρωμα, μπορούν να γίνουν καλύτερα αντιληπτές στο ευρύτερο πλαίσιο των διαταραχών της νευρωνικής πλαστικότητας του εγκεφάλου. Έτσι φαίνεται να σχετίζονται με διαταραχές πολύπλοκων κυκλωμάτων ενδοκυττάριας διαβίβασης σήματος και συναπτικής πλαστικότητας, παρά με μια απλή δυσλειτουργία ενός νευροδιαβιβαστικού συστήματος.

Η ετερογένεια ως προς τη συμπτωματολογία που παρατηρείται στη ΔΔ καθώς και η απουσία μοντέλων σε πειραματόζωα για τη μελέτη του πλήρους φάσματος της διαταραχής αποτελεί τροχοπέδη στην προσπάθεια κατανόησης του υποκείμενου υποστρώματος. Τα παραπάνω οδήγησαν τη σύγχρονη έρευνα στην αξιοποίηση της θεωρίας των ενδοφαινοτύπων. Η θεωρία αυτή στηρίζει τη μελέτη συγκεκριμένων πτυχών της διαταραχής, οι οποίες σχετίζονται με πιο συγκεκριμένες δυσλειτουργίες του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) και έχει ως απώτερο στόχο την καλύτερη κατανόηση πτυχών της ΔΔ.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή επικεντρώνεται στη μελέτη ενός συγκεκριμένου ενδοφαινότυπου μανιακής συμπεριφοράς, ο οποίος σχετίζεται με τη διαταραχή του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου που παρατηρείται στη ΔΔ. Πιο συγκεκριμένα, αναπτύξαμε ένα φαρμακο-επαγόμενο μοντέλο μανίας στον επίμυ, αξιοποιώντας το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε συνδυασμό με χορήγηση αμφεταμίνης και ελέγξαμε τις επιδράσεις διαφορετικών σταθεροποιητικών της διάθεσης στο συμπεριφορικό αυτό πρότυπο.

Αρχικά πραγματοποιήσαμε σειρά πρωτότυπων συμπεριφορικών μελετών στις οποίες εκτιμήσαμε τις επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl, VPA, LiCl και VPA και αριπιπραζόλης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού καθώς και στην ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Σύμφωνα με τα ευρήματα των μελετών μας, η οξεία χορήγηση όλων των σταθεροποιητικών της διάθεσης αύξησε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, υποδηλώνοντας μείωση της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού και επομένως ανηδονία. Ωστόσο, μόνο η οξεία χορήγηση LiCl, η οξεία συγχορήγηση LiCl και VPA και η οξεία χορήγηση αριπιπραζόλης, αλλά όχι η οξεία χορήγηση VPA, ανέστειλε την επαγόμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Τα ευρήματα αυτά φαίνεται να συμφωνούν με κλινικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι το LiCl και η αριπιπραζόλη είναι αποτελεσματικότερα κατά τη μανιακή φάση της νόσου ενώ το VPA φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερο κατά την καταθλιπτική φάση της διαταραχής.

Τα αποτελέσματα των χρόνιων μελετών μας έδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση LiCl καθώς και η χρόνια συγχορήγηση LiCl και VPA οδήγησε στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις των φαρμάκων, η οποία υποθέσαμε ότι σχετίζεται με την αδυναμία αναστολής των ενισχυτικών δράσεων της αμφεταμίνης έπειτα από τη χρόνια χορήγησή τους. Αντίθετα η χρόνια χορήγηση VPA και αριπιπραζόλης επέδειξε μια σταθερή ανηδονική δράση. Μετά από χρόνια χορήγηση μόνο η αριπιπραζόλη ανέστειλε την επαγόμενη από αμφεταμίνη αύξηση της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού. Αυτό αναδεικνύει την αριπιπραζόλη ως το πλέον αποτελεσματικό σταθεροποιητικό της διάθεσης μετά από χρόνια χορήγηση για την αντιμετώπιση του συγκεκριμένου ενδοφαινότυπου μανιακής συμπεριφοράς. Τα ευρήματα αυτά πιθανολογούν ότι η χρόνια χορήγηση LiCl επηρέασε τη νευρωνική πλαστικότητα του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου. Γι' αυτό και στόχος των επόμενων μελετών μας ήταν η διαλεύκανση της υποκείμενης νευρωνικής πλαστικότητας.

Επιλέξαμε να μελετήσουμε τις επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης LiCl και αριπιπραζόλης σε κομβικές περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως το κοιλιακό ραβδωτό και ο προμετωπιαίος φλοιός. Βασισμένοι στη θεωρία της νευρωνικής πλαστικότητας της ΔΔ, πραγματοποιήσαμε μια σειρά πρωτότυπων μελετών ανοσοαποτύπωσης για τη μελέτη της κατάστασης φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη μηνυματοδότηση μέσω των μονοπατιών της PKA, PKC, CaMKII και Fyn καθώς και στη διακίνηση των ιοντοτροπικών γλουταμινεργικών υποδοχέων NMDA και AMPA. Τέλος, μελετήσαμε την κατάσταση φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB για να

προσδιορίσουμε τις επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στις νευρωνικές μεταγραφικές διεργασίες.

Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών έδειξαν ότι η οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης οδηγεί σε αναστολή της δραστηριότητας της PKA, η οποία φαίνεται ότι σχετίζεται με τις ανηδονικές επιδράσεις που παρατηρήσαμε στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Σε αντίθεση με ότι παρατηρήσαμε κατά την οξεία χορήγηση των σταθεροποιητικών της διάθεσης, η χρόνια χορήγησή τους επηρέασε σημαντικά τη νευρωνική πλαστικότητα. Δείξαμε ότι ποικίλα ενδοκυττάρια μονοπάτια όπως αυτά των PKA, PKC, CaMKII και Fyn ρυθμίζονται έπειτα από τη χρόνια χορήγηση αυτών των φαρμάκων. Επιπλέον φαίνεται ότι υπάρχει σημαντική ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας μέσω της αναστολής της ένθεσης νέων NMDA και AMPA υποδοχέων στη σύναψη αλλά και μέσω της προαγωγής της ενδοκυττάρωσης των υπαρχόντων μεμβρανικών υποδοχέων έχοντας ως τελικό αποτέλεσμα την επαγωγή LTD. Τέλος, στους κοινούς μηχανισμούς δράσης των σταθεροποιητικών της διάθεσης θα πρέπει να συμπεριλάβουμε και την καταστολή των μεταγραφικών διεργασιών στο κοιλιακό ραβδωτό καθώς φαίνεται ότι τα φάρμακα αυτά αναστέλλουν την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα CREB μέσω της μείωσης της φωσφορυλίωσής του.

Αν και θεωρούμε ότι οι προαναφερόμενοι μηχανισμοί των σταθεροποιητικών της διάθεσης μπορεί να σχετίζονται με τους αντιμανιακούς μηχανισμούς δράσης τους, επιπρόσθετη πλαστικότητα θα πρέπει να σχετίζεται με την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής στις ανηδονικές δράσεις του LiCl έπειτα από τη χρόνια χορήγησή του. Πιο συγκεκριμένα, η καταστολή των μεταγραφικών διεργασιών στη ρυθμιστική περιοχή του προμετωπιαίου φλοιού καθώς και η CaMKII εξαρτώμενη αναστολή της ένθεσης νέων AMPA υποδοχέων στις «σιωπηλές» συνάψεις του κοιλιακού ραβδωτού πιστεύουμε ότι σχετίζονται με την αδυναμία του κυκλώματος ανταμοιβής να κωδικοεύσει ανηδονικά ερεθισμάτα καθώς και με τη σχετιζόμενη ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής που παρατηρήσαμε έπειτα από τη χρόνια χορήγηση LiCl.

Εν κατακλείδι, η παρούσα διδακτορική διατριβή παρέχει πρωτότυπα δεδομένα αναφορικά με τις οξείες και χρόνιες επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης στις διεργασίες ανταμοιβής του εγκεφάλου σε πολλαπλά επίπεδα, από το συμπεριφορικό και συστημικό έως το μοριακό. Επιπλέον προτείνει ένα νέο φαρμακοεπαγόμενο μοντέλο μανίας για τη μελέτη της αυξημένης ευφορίας/ηδονής που χαρακτηρίζει ορισμένους διπολικούς ασθενείς κατά την μανιακή φάση της ΔΔ.

Επιπροσθέτως, τα ευρήματά της υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγηση LiCl μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής σε κάποιες από τις δράσεις του, η οποία σχετίζεται με αλλαγές στη νευρωνική και συναπτική πλαστικότητα του κυκλώματος ανταμοιβής. Δείξαμε, ότι οι οξείες επιδράσεις των σταθεροποιητικών της διάθεσης διαφοροποιούνται από τις χρόνιες επιδράσεις τους, οι οποίες σχετίζονται με την ύπαρξη έντονης νευρωνικής πλαστικότητας που εμπλέκει την επαγωγή LTD, τη ρύθμιση ποικίλων ενδοκυττάρων μονοπατιών καθώς και την καταστολή της έκφρασης γονιδίων. Συμπερασματικά, η παρούσα διδακτορική διατριβή στηρίζει τη θεωρία της ύπαρξης ελλειμμάτων στη νευρωνική πλαστικότητα στη ΔΔ και προτείνει ότι η χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης αμβλύνει τη σχετική συμπτωματολογία μέσω άμβλυνσης των ελλειμμάτων της νευρωνικής πλαστικότητας που παρουσιάζουν οι διπολικοί ασθενείς.

H. ABSTRACT

Bipolar Disorder (BD) is a chronic recurrent mood disorder characterized by alternating episodes of depression and mania. Over the last several years there have been significant developments identifying its pathophysiology. However, the exact neurobiological substrate of the disease, as well as the therapeutic mechanism of action of mood stabilizers have not been clearly defined. Current theories consider that mood disorders, which are highly influenced by genetic factors, could be better conceptualized in the general context of disorders of neuroplasticity. The underlying substrate seems to involve dysfunction of complex intracellular signaling circuits and synaptic plasticity instead of a simple dysfunction of single neurotransmitter systems.

The observed heterogeneity considering symptomatology and the absence of relevant animal models that reflect the whole spectrum of the disorder consists of major obstacles in the effort of understanding the underlying substrate. For this reason, current research utilizes the endophenotype theory. According to this theory, the study of certain facets of the disease which relates to more specific dysfunctions of the Central Nervous System (CNS), could ultimately contribute to a better understanding of the various facets of BD.

The present PhD thesis is focused on the study of a certain endophenotype of manic behaviour: The dysfunction in the brain reward circuit that has been observed in BD. Specifically, we developed a drug-induced manic model in rats which utilized the intracranial self-stimulation (ICSS) paradigm combined with amphetamine administration. We then evaluated the effects of the different mood stabilizers on this behavioural model.

Initially, we performed several novel behavioural studies to assess the effects of acute and chronic administration of LiCl, VPA, combined LiCl and VPA and aripiprazole on brain stimulation reward (BSR) as well as on amphetamine-induced facilitation of BSR.

Our findings indicated that acute administration of mood stabilizers increased ICSS threshold, thus decreasing the reinforcing efficacy of brain stimulation and consequently producing anhedonia. However, only acute LiCl, acute combined LiCl and VPA and acute aripiprazole administration, but not VPA administration, attenuated amphetamine-induced facilitation of BSR. Our theory is in accordance with clinical data which indicated that LiCl and aripiprazole are more effective during

the manic phase of the disease, while VPA is more effective during the depressive phase of the disease.

Data from our chronic studies indicated that chronic administration of LiCl and chronic combined administration of LiCl and VPA induced tolerance to the anhedonic effect of the drugs. The finding might be related to their inability to attenuate the reward-facilitating effects of amphetamine following chronic treatment. In contrast, chronic VPA and chronic aripiprazole produced a sustained anhedonic effect. Following chronic administration, only aripiprazole attenuated the reward-facilitating effect of amphetamine. This finding indicates that aripiprazole might be the most efficacious mood stabilizer following chronic treatment to counteract the presently studied manic endophenotype. We hypothesize that these findings exemplified that chronic administration of LiCl affected neuronal plasticity in the brain reward circuitry. Thus, in follow-up studies we sought to examine the underlying neuronal plasticity following chronic LiCl and chronic aripiprazole administration.

More specifically, we examined the effects of acute and chronic administration of LiCl and aripiprazole in key regions of brain reward circuitry, such as ventral striatum and prefrontal cortex (PFC). Based on the neuronal plasticity theory for BD, we performed several immunoblotting studies to assess protein phosphorylation states, which are related to signaling via PKA, PKC, CaMKII and Fyn pathways, as well as with trafficking of glutamate ionotropic NMDA and AMPA receptors. Finally, we tested the phosphorylation state of the transcription factor CREB in order to define the effects of mood stabilizers on neuronal transcription processes.

According to our results, acute administration of mood stabilizers inhibited PKA activity. This might have been related to the anhedonic effect that we have observed in the ICSS studies. In contrast to the acute treatments, chronic administration of mood stabilizers significantly affected neuronal plasticity. We demonstrated that several intracellular signaling pathways including PKA, PKC, CaMKII and Fyn pathways are regulated by chronic administration. In addition, synaptic plasticity seemed to be highly influenced by the inhibition of the insertion of new NMDA and AMPA receptors in synapse as well as by the stimulation of endocytosis of membrane receptors that ultimately lead to the induction of LTD. Considering the common mechanisms of action of mood stabilizers, we should also

include the suppression of transcriptional processes in the ventral striatum, since these drugs seemed to inhibit the activation of the transcription factor CREB via the reduction of its phosphorylation.

Although we considered that the aforementioned mechanisms of mood stabilizers might be related to their antimanic mechanisms, additional plasticity might be related to the development of behavioral tolerance to the anhedonic effect of LiCl following its chronic treatment. Specifically, suppression of transcription processes in the regulatory region of PFC as well as CaMKII-dependent inhibition of the insertion of new AMPA receptors in the “silent” synapses of ventral striatum might be related to the reward circuitry’s inability to encode anhedonic stimuli as well as to the development of behavioral tolerance that we observed following chronic LiCl administration.

In summary, the present PhD thesis has provided original data on the effects of acute and chronic treatments of mood stabilizers on brain reward processes considering multiple physiological levels from the behavioral and systemic to the molecular. Moreover, the results suggest a new pharmacologically-induced animal model of mania to assess the increased euphoria/hedonistic drive that is observed in a specific population of bipolar patients during the manic phase of BD. In addition, our data indicated that chronic administration of LiCl can lead to the development of behavioral tolerance in some of its effects. This tolerance is related to neuronal and synaptic plasticity of brain reward circuitry. We demonstrated that the effects of mood stabilizers following acute treatment differ from their effects following chronic treatment. These effects are related to robust neuronal plasticity that involves LTD induction, the regulation of multiple signaling pathways, and the suppression of gene expression. In conclusion, the present PhD thesis supports the theory of disturbed neuronal plasticity in BD and suggests that mood stabilizers relieve manic symptoms via attenuation of neuronal plasticity deficits that are observed in bipolar patients.

Θ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1.Συντομογραφίες.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π1.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	
AC	Αδενυλική κυκλάση
Akt	Ισοδύναμο σύμβολο με PKB (Πρωτεϊνική κινάση B)
Ala	Αλανίνη
Αμφ.	Αμφεταμίνη
AMP	Μονοφωσφορική αδενοσίνη
AMPA	α-αμινο-3-υδροξύ-5-μέθυλο-4-ισοξαζολοπροπιονικό οξύ (ιοντοτροπικός γλουταμινεργικός υποδοχέας)
ANK3	Γονίδιο που κωδικεύει την πρωτεΐνη αγκυρίνη G
ANOVA	Ανάλυση διακύμανσης
AO	Αραχιδονικό οξύ
AP2	Πρωτεΐνη προσαρμογής 2 (ενεργοποιητής μεταγραφής)
Apc	Adenomatous Polyposis Coli (πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο στο μονοπάτι μηνυματοδότησης των Wnt/GSK-3β)
ΑΤΡάση	Ενζυμο που καταλύει την αποσύνθεση τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP)
BAG1	Γονίδιο Bcl-2-associated athanogene-1
BCA	Bicinchoninic Acid
Bcl-2	Πρωτοογκογονίδιο που ενεργοποιείται σε λέμφωμα B-κυττάρων του ανθρώπου 2
BDNF	Εγκεφαλικός νευροτροφικός παράγοντας
PGMάση	Φωσφογλυκομουτάση
Βλ.	Βλέπε
BPΝάση	Διφωσφορική νουκλεοτιδάση
BSA	Bovine Serum Albumin (βόειος λευκωματίνη)
b-zip domain	Τρισδιάστατο δομικό μοτίβο λευκίνης που μοιάζει με φερμουάρ

C	Σύμβολο στοιχείου άνθρακα
C2	C2 εξόνιο (αλληλουχία νουκλεϊκών οξέων που εμφανίζονται στο ώριμο RNA μόριο)
°C	Βαθμοί κελσίου
CA1	Πεδίο 1 του αμμώνιου κέρατος (πεδίο 1 του ιπποκάμπου)
Ca²⁺	Ιόν ασβεστίου
CACNA1C	Γονίδιο που κωδικεύει την άλφα 1C υπομονάδα L-τύπου τασηο-εξαρτώμενων διαύλων ασβεστίου
CaMK	Ασβεστιοεξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης
CaMKII	Ασβεστιοεξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης II
CaMKIIα	Ασβεστιοεξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης IIα
CaMKIIβ	Ασβεστιοεξαρτώμενη κινάση της καλμοδουλίνης IIβ
cAMP	Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη
cDNA	Συμπληρωματικό DNA
CHO κύτταρα	Chinese Hamster Ovary κύτταρα
CLOCK	Γονίδιο ρύθμισης κερκαδιανού ρυθμού
cm	Εκατοστόμετρο
CoA	Συνένζυμο A
C15orf53	Γονίδιο στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 15q14, το οποίο δεν έχει ακόμα χαρακτηριστεί
COX-	Κυκλοοξυγενάση (ένζυμο εμπλεκόμενο στο μεταβολισμό ΑΟ)
COX-2	Κυκλοοξυγενάση-2
CP12	Κύτταρα τα οποία προέρχονται από φαιοχρωμοκύττωμα επίμυ
γρ.	Γραμμάριο
CREB	Μεταγραφικός παράγοντας πρωτεΐνη πρόσδεσης που αποτελεί στοιχείο απόκρισης στο κυκλικό AMP
CREM	Ρυθμιστής του αποκρινόμενου στοιχείου του κυκλικού AMP
C-τελικό άκρο	Καρβοξυ-τελικό άκρο πρωτεΐνης
DAG	Διακυλογλυκερόλη
DAGβ	Διακυλογλυκερόλη β
DAOA	Γονίδιο που κωδικεύει την οξειδάση ενεργοποιητή D-αμινοξέος
DARPP-32	Ρυθμιζόμενη από τη ντοπαμίνη και το κυκλικό AMP φωσφοπρωτεΐνη 32kDa
ΔΔ	Διπολική Διαταραχή

DGKH	Γονίδιο που κωδικεύει τη διακυλογλυκερόλη κινάση ήτα
DISC1	Γονίδιο διαταραγμένο στη σχιζοφρένεια 1
DNA	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DSM-IV-TR	Αναθεωρημένη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου για τις Ψυχικές Διαταραχές-IV
DTNBP1	Γονίδιο που κωδικεύει την δυστρομπρεβίνη πρωτεΐνη πρόσδεσης 1
Dvl	Dishevelled (πρωτεΐνες εμπλεκόμενες στη μηνυματοδότηση μέσω Wnt)
E-LTP	Πρώιμη φάση μακρόχρονης ενδυνάμωσης
ERK	Ρυθμιζόμενη από εξωκυττάριο σήμα κινάση
ERK1	Ρυθμιζόμενη από εξωκυττάριο σήμα κινάση-1
FBPάση	Φρουκτόζη 1,6-διφωσφατάση
FDA	Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων
fMRI	Λειτουργική μαγνητική τομογραφία
fyn	Γονίδιο που κωδικεύει την πρωτεΐνη μη-υποδοχέα κινάση της τυροσίνης Fyn
G	Μεταγωγός πρωτεΐνη G που εμπλέκεται στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος
GABA	γ-αμινοβουτυρικό οξύ
G_α	Μεταγωγός πρωτεΐνη G που διαθέτει ανασταλτική α υπομονάδα
GAP-43	Σχετιζόμενη με την ανάπτυξη πρωτεΐνη μοριακού βάρους 43kDa που αποτελεί υπόστρωμα της PKC
G_β	Μεταγωγός πρωτεΐνη G που διαθέτει διεγερτική α υπομονάδα
GSK-3	Γονίδιο που κωδικεύει την κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου-3
GSK-3	Πρωτεϊνική κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου-3
GSK-3α	Πρωτεϊνική κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου-3 ισομορφή α
GSK-3β	Πρωτεϊνική κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου-3 ισομορφή β
GWAS	Συσχετιστική μελέτη εύρους γονιδιώματος
GluR1	Υπομονάδα AMPA υποδοχέων
GluR1/GluR2	AMPA υποδοχέας αποτελούμενος από GluR1 και GluR2 υπομονάδες
GluR2	Υπομονάδα AMPA υποδοχέων
GluR3	Υπομονάδα AMPA υποδοχέων
GluR4	Υπομονάδα AMPA υποδοχέων

GRs	Υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών
H89	Αναστολέας της δραστηριότητας της PKA
HATs	Ιστόνες ακετυλάσες
HDAC	Ιστόνη αποακετυλάση
ΗΠΑ	Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής
Hsp70	Πρωτεΐνες θερμικού σοκ με μοριακό βάρος 70kDa
Hz	Hertz
IEG	Πρώιμο άμεσο γονίδιο
IgG	Ανοσοσφαιρίνη G
I-LTP	Αρχική φάση μακρόχρονης ενδυνάμωσης
ΙMPάση	Μονοφωσφορική φωσφοϊνοσιτόλη
i.p.	Ενδοπεριτοναϊκά
IP	Φωσφοϊνοσιτόλη
IP₃	Τριφωσφορική ινοσιτόλη
ΙPPάση	Ινοσιτόλη πολυφωσφάτη 1-φωσφατάση
K⁺	Ιόν καλίου
kDa	Kilodalton (μονάδα μέτρησης μοριακού βάρους πρωτεϊνών)
KID	Επαγόμενο από κινάση τμήμα σε πρωτεΐνη CREB
KIF17	Πρωτεΐνη μέλος 17 της οικογένειας κινεσινών
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
k.o.	knock Out, η αναφορά γίνεται για την απαλοιφή γονιδίων σε πειραματόζωα
κτλ.	Και τα λοιπά
L διάλυλος	L τύπων διαύλων Ca ²⁺
LEF	Μεταγραφικός παράγοντας Lymphoid Enhancer Factor
Li⁺	Ιόν λιθίου
LiCl	Χλωριούχο λίθιο
L-LTP	Καθυστερημένη φάση μακρόχρονης ενδυνάμωσης
LSD	Κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων ελαχίστων διαφορών
LTD	Μακρόχρονη καταστολή
LTP	Μακρόχρονη ενδυνάμωση
μΑ	Μίκροαμπέρ (εκατομμυριοστό του αμπέρ)
MAPK	Ενεργοποιούμενη από το μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση
MEK	Πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιεί την ERK

Met	Μεθειονίνη
μg	Μικρογραμμάριο (εκατομμυριοστό του γραμμαρίου)
Mg²⁺	Ιόν μαγνησίου
mg/kg	Χιλιόγραμμο/κιλό
mGluR	Μεταβολοτροπικός γλουταμινεργικός υποδοχέας
μl	Μικρόλιτρο (εκατομμυριοστό του λίτρου)
μl	Χιλιοστόλιτρο
μm	Μικρόμετρο (εκατομμυριοστό του μέτρου)
mm	Χιλιοστόμετρο
mM	Millimolar
mRNA	Μηνυματοφόρο RNA
msec	Χιλιοστό του δευτερολέπτου
n=	Αριθμός περιπτώσεων
Na	Νάτριο
Na⁺	Ιόν νατρίου
nAChR	Νικοτινικός υποδοχέας ακετυλοχολίνης
NAP	Πρωτεΐνες που σχετίζονται με τους NMDA υποδοχείς
NFAtc	Πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων T κυττάρων
NMDA	N-μεθυλ-D-ασπαρτικό (ιοντοτροπικός γλουταμινεργικός υποδοχέας)
NR1	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR1/NR2B	NMDA υποδοχέας αποτελούμενος από NR1 και NR2B υπομονάδες
NR2	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR3	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR2A	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR2B	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR2C	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NR2DOr	Υπομονάδα NMDA υποδοχέων
NRG1	Γονίδιο που κωδικεύει τη Neuregulin 1
N-τελικό άκρο	Αμινο-τελικό άκρο πρωτεΐνης

O	Οξυγόνο
OXR1	Υποδοχέας ορεξίνης 1
P	Τιμή που υποδεικνύει το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ενός ευρήματος
P	Φώσφορος
PAGE	Ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμιδίου
PAP	3'-φωσφοαδενοσίνη 5'-φωσφάτη
PAR1	Ψευδοαυτοσωμική περιοχή 1
PDBu	Ενεργοποιητής PKC
PDZ	Τμήμα πρωτεΐνης που συμβάλλει στην αλληλεπίδραση της με άλλες πρωτεΐνες
PET	Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων
PFC	Προμετωπιαίος φλοιός
PH	Μέτρο οξύτητας ή αλκαλικότητας ενός υδάτινου διαλύματος
Phe	Φαινυλαλανίνη
PI	Φωσφοϊνοσιτόλη
PKA	Πρωτεϊνική Κινάση A
PKB	Πρωτεϊνική Κινάση B
PKC	Πρωτεϊνική Κινάση C
PLA₂	Φωσφολιπάση A ₂
PLC	Φωσφολιπάση C
PLCG1	Γονίδιο που κωδικεύει την φωσφολιπάση C _{γ-1}
POLG	Γονίδιο που κωδικεύει τη μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση-γ
PP1	Πρωτεϊνική φωσφατάση 1
PP2A	Πρωτεϊνική φωσφατάση 2A
PP2B	Πρωτεϊνική φωσφατάση 2B
PSD	Μετασυναπτική πυκνότητα
p-Ser¹³³-CREB	Φωσφορυλιωμένη CREB πρωτεΐνη στην Ser ¹³³
p-Ser⁸³¹-GluR1	Φωσφορυλιωμένη GluR1 πρωτεΐνη στην Ser ⁸³¹

p-Ser⁸⁴⁵-GluR1	Φωσφορυλιωμένη GluR1 πρωτεΐνη στην Ser ⁸⁴⁵
p-Ser⁸⁹⁶-NR1	Φωσφορυλιωμένη NR1 πρωτεΐνη στην Ser ⁸⁹⁶
p-Ser⁸⁹⁷-NR1	Φωσφορυλιωμένη NR1 πρωτεΐνη στην Ser ⁸⁹⁷
p-Ser¹³⁰³-NR2B	Φωσφορυλιωμένη NR2B πρωτεΐνη στην Ser ¹³⁰³
p-Tyr¹⁴⁷²-NR2B	Φωσφορυλιωμένη NR2B πρωτεΐνη στην Tyr ¹⁴⁷²
π.χ.	Παραδείγματος χάριν
Q1	Περιοχή πλούσια σε γλουταμίνη-1 στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης CREB
Q2	Περιοχή πλούσια σε γλουταμίνη-2 σε πρωτεΐνη CREB
Raf	Πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος στο μονοπάτι της ERK
Rap1	Πρωτεΐνη που αποτελεί υπόστρωμα για το κυκλικό AMP
Ras	Ενζυμο, μικρή GTPάση που εμπλέκεται στην ενδοκυττάρια διαβίβαση σήματος
RNA	Ριβονουκλεϊκό οξύ
RRR	Σήμα διατήρησης ενδοπλασματικού δικτύου
SAP-102	Σχετιζόμενη με τη σύναψη πρωτεΐνη 102
SDS	Δωδεκυλο-θειικό νάτριο
SDS/PAGE	Ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμιδίου παρουσία SDS
sec	Δευτερόλεπτο
SEC8	Πρωτεΐνη μέλος του εξωκυστιδικού συμπλόκου
Ser⁹	Σερίνη στη θέση 9 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser²¹	Σερίνη στη θέση 21 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser¹²⁹	Σερίνη στη θέση 129 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser¹³³	Σερίνη στη θέση 133 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸⁸⁰	Σερίνη στη θέση 880 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸³¹	Σερίνη στη θέση 831 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸⁴⁵	Σερίνη στη θέση 845 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸⁹⁰	Σερίνη στη θέση 890 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸⁹⁶	Σερίνη στη θέση 896 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser⁸⁹⁷	Σερίνη στη θέση 897 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης

Ser¹³⁰³	Σερίνη στη θέση 1303 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
Ser¹³²³	Σερίνη στη θέση 1323 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
SF	Ταχύ πάγωμα
SH2	Περιοχή της πρωτεΐνης Fyn η οποία είναι διατηρημένη μεταξύ των πρωτεϊνών της Src οικογένειας
SH3	Περιοχή της πρωτεΐνης Fyn η οποία είναι διατηρημένη μεταξύ των πρωτεϊνών της Src οικογένειας αλλά και σε άλλες οικογένειες πρωτεϊνών
SH-SY5Y κύτταρα	Κύτταρα προερχόμενα από ανθρώπινο νευροβλάστωμα
SLC18A2	Γονίδιο που κωδικεύει τον κυστιδικό μεταφορέα μονοαμινών 2
SNP	Πολυμορφισμός ενός νουκλεοτιδίου
TCF	Μεταγραφικός παράγοντας T κυττάρων
T-CREB	Συνολική CREB πρωτεΐνη
T-GluR1	Συνολική GluR1 πρωτεΐνη
Thr²⁸⁶	Θρεονίνη στη θέση 286 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
T-NR1	Συνολική NR1 πρωτεΐνη
T-NR2B	Συνολική NR2B πρωτεΐνη
TORC1	Μεταγωγέας του ρυθμιζόμενου CREB 1
Trk-A	Υποδοχέας κινάση της τυροσίνης A
Trk-B	Υποδοχέας κινάση της τυροσίνης B
Tyr¹⁴⁷²	Τυροσίνη στη θέση 1472 της πρωτοταγούς δομής της πρωτεΐνης
SPSS	Στατιστικό Πακέτο για τις Κοινωνικές Επιστήμες
Src	Οικογένεια κινασών της τυροσίνης
UBI	United Biochemical Inc.
val	Βαλίνη
VGLUT	Κυστιδικός μεταφορέας γλουταμινικού οξέος
VMAT2	Κυστιδικός μεταφορέας μονοαμινών 2
VPA	Βαλπροϊκό οξύ
WAY100635	Ανταγωνιστής των 5-HT _{1A} υποδοχέων
WTCCC	Κοινοπραξία Ελέγχου Περιπτώσεων Wellcome Trust

1:200	Αναφορά σε διάλυση αντισώματος, 1μl αντισώματος προς 200μl 5% γάλα σε TBST
1:500	Αναφορά σε διάλυση αντισώματος, 1μl αντισώματος προς 500μl 5% γάλα σε TBST
1:1000	Αναφορά σε διάλυση αντισώματος, 1μl αντισώματος προς 1000μl 5% γάλα σε TBST
1:4000	Αναφορά σε διάλυση αντισώματος, 1μl αντισώματος προς 4000μl 5% γάλα σε TBST
1:6000	Αναφορά σε διάλυση αντισώματος, 1μl αντισώματος προς 6000μl 5% γάλα σε TBST
5-HT_{1A}	5-HT _{1A} μεταβολοτροπικός υποδοχέας σεροτονίνης
5-HT₂	5-HT ₂ μεταβολοτροπικός υποδοχέας σεροτονίνης
5-HT_{2A}	5-HT _{2A} μεταβολοτροπικός υποδοχέας σεροτονίνης
5-HT_{2B}	5-HT _{2B} μεταβολοτροπικός υποδοχέας σεροτονίνης
5-HT₆	5-HT ₆ μεταβολοτροπικός υποδοχέας σεροτονίνης
↑	Αύξηση σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου
↓	Μείωση σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου
–	Έλλειψη διαφορών σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου

2. Πρωτόκολλο ανοσοαποτύπωσης κατά Western.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π2.

Πρωτόκολλο ανοσοαποτύπωσης κατά Western

1. Ίσες ποσότητες δειγμάτων (40μg) φορτώθηκαν σε 9% αποδιατακτικά πηκτώματα πολυακρυλαμίδης. Οι δείκτες μοριακού βάρους (ladders) που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι Page Ruler Prestained Protein Ladder και Spectra Multicolor Broad Range Protein Ladder
2. Οι πρωτεΐνες διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμίδιου παρουσία SDS (SDS/PAGE). Η ανάλυση έγινε μέσα από ένα διπλό πήκτωμα: το πήκτωμα επιστοίβασης (stacking gel, άνω πήκτωμα) που στόχο έχει την συσσώρευση των πρωτεϊνών σε ένα κοινό μέτωπο και το πήκτωμα διαχωρισμού (separating gel, κάτω πήκτωμα) όπου γίνεται η ανάλυση των πρωτεϊνών κατά μέγεθος. Η ηλεκτροφόρηση έγινε μέσα σε διάλυμα τρεξίματος/ηλεκτροφόρησης (running buffer). Η επιστοίβαση των πρωτεϊνών έγινε με σταθερή τάση 120V, ενώ ο διαχωρισμός τους έγινε με σταθερή τάση 160V
3. Η ηλεκτρομεταφορά των αποτυπωμάτων σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης (0.2mm), παρουσία ρυθμιστικού διαλύματος μεταφοράς έγινε καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας (overnight transfer) με σταθερά 50mA σε θερμοκρασία δωματίου
4. Οι μεμβράνες κόπηκαν σε δύο τμήματα, με βάση τους τους δείκτες μοριακού βάρους,

για την ξεχωριστή μελέτη πρωτεϊνών μεγάλου και μεσαίου μοριακού βάρους

5. Το μπλοκάρισμα της μη ειδικής πρόσδεσης του αντισώματος (blocking) έγινε με εμβάπτιση των μεμβρανών σε 5% γάλα σε TBST για 1 ώρα

6. Ακολούθησε επώαση (incubation) των μεμβρανών στο πρώτο αντίσωμα για 2 ώρες έως καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας (overnight) ανάλογα με το αντίσωμα

7. Ακολούθησαν 3 πλύσεις των μεμβρανών x 10 λεπτα σε TBST

8. Στη συνέχεια οι μεμβράνες επώαστηκαν στο δεύτερο αντίσωμα (1:6000) για 1 ώρα

9. Μετά το δεύτερο αντίσωμα έγιναν 6 πλύσεις των μεμβρανών x 10 λεπτα σε TBST

10. Οι μεμβράνες εμβαπτίστηκαν με κατάλληλα διαλύματα ενίσχυσης χημειοφωταύγειας ανοσοαποτυπώματος

11. Πραγματοποιήθηκε εμφάνιση της αυτοραδιογραφίας σε Kodak Biomax XAR film σε σκοτεινό θάλαμο

ΠΙΝΑΚΑΣ Π3.

Σύσταση 9% αποδιατακτικών πήκτωμάτων πολυακρυλαμίδης
(δημιουργία 4 πήκτωμάτων)

	9% πήκτωμα διαχωρισμού (κάτω πήκτωμα)	4% πήκτωμα επιστοίβασης (άνω πήκτωμα)
Απιονισμένο H ₂ O (dH ₂ O)	13.5ml	10ml
Acrylamide/Bis 37.5:1 (Διάλυμα 30%)	9ml	2.25ml
Ρυθμιστικό διάλυμα κάτω πηκτώματος (Lower buffer)	7.5ml	-
Ρυθμιστικό διάλυμα άνω πηκτώματος (Upper buffer)	-	3.75ml
Ammonium Persulfate (10%)	125μl	160μl
Tetramethylethylenediamine (TEMED)	12.5μl	16μl

2.1. Δημιουργία απαραίτητων διαλυμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π4.

**Κάτω ρυθμιστικό διάλυμα (Lower buffer)
(500ml)**

1. Διάλυση 90.85g Tris base σε 350ml dH₂O

2. Ρύθμιση pH σε 8.8

3. Προσθήκη 2g SDS (0.4%)

4. Προσθήκη dH₂O έως ότου το διάλυμα είναι 500ml

ΠΙΝΑΚΑΣ Π5.**Άνω ρυθμιστικό διάλυμα (Upper buffer)
(500ml)**1. Διάλυση 30.25g Tris base σε 350ml dH₂O

2. Ρύθμιση pH σε 6.8

3. Προσθήκη 2g SDS (0.4%)

4. Προσθήκη dH₂O έως ότου το διάλυμα είναι 500ml**ΠΙΝΑΚΑΣ Π6.**

	10X ρυθμιστικό διάλυμα τρεξίματος/ ηλεκτροφόρησης (10X running buffer) 1000ml	1X ρυθμιστικό διάλυμα τρεξίματος/ ηλεκτροφόρησης (1X running buffer) 1000ml
Glycine	144g	
Tris base	30g	
SDS	7.5ml	
Απιονισμένο H ₂ O (dH ₂ O)	έως 1L	900ml
10X ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτροφόρησης		100ml

ΠΙΝΑΚΑΣ Π7.

	10X ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς (10X transfer buffer) 1000ml	1X ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς (1X transfer buffer) 1000ml
Glycine	144g	
Tris base	30.3g	
Απιονισμένο H ₂ O (dH ₂ O)	έως 1L	600ml
MeOH (Methanol)		300ml
10X ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς		100ml

ΠΙΝΑΚΑΣ Π8.

	10X Tris buffered saline pH 7.4 (10X TBS) 1000ml	Διάλυμα «πλύσεων» 1X Tris buffered saline Tween (1X TWEEN) 1000ml
NaCl	116.8g	
Tris base	60.6g	
Απιονισμένο H₂O (dH₂O)	dH₂O έως 800ml -> ρύθμιση pH σε 7.4 -> dH₂O έως 1000ml	900ml
Tween 20		1.2ml
10X TBS		100ml

ΠΙΝΑΚΑΣ Π9.

Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων (Sample buffer) 20ml
1. Διάλυση 600mg Tris (250mM) και 8ml Glycerol (40%) σε 6ml dH₂O
2. Ρύθμιση pH σε 6.75
3. Προσθήκη 16g SDS (8%), 4ml B-mercaptoethanol (20%) και 4ml promophenol blue
4. Προσθήκη dH₂O έως ότου το διάλυμα είναι 20ml

ΠΙΝΑΚΑΣ Π10.

Ammonium Persulfate 10% (AP) 1ml
0.1g Ammonium Persulfate
1ml dH₂O

ΠΙΝΑΚΑΣ Π11.

5% γάλα σε TBST
5g άπαχο ξηρό γάλα
100ml TBST

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

- Abler, B., Greenhouse, I., Ongur, D., Walter, H. & Heckers, S. (2007). Abnormal reward system activation in mania. *Neuropsychopharmacology*, *33*, 2217-2227.
- Ahmad, M., Elnakady, Y., Farooq, M. & Wadaan, M. (2011). Lithium induced toxicity in rats: blood serum chemistry, antioxidative enzymes in red blood cells and histopathological studies. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *34*, 272-277.
- Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2000). Βασικές αρχές κυτταρικής βιολογίας: Εισαγωγή στη μοριακή βιολογία του κυττάρου (Ζιούδρου, Χ.). Ιατρικές Αθήνα: Εκδόσεις Πασχαλίδη.
- Ali, S.M., Ahmad, A., Shahabuddin, S., Ahmad, M.U., Sheikh, S. & Ahmad, I. (2010). Endoxifen is a new potent inhibitor of PKC: a potential therapeutic agent for bipolar disorder. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *20*, 2665-2667.
- Althoff, R.R., Faraone, S.V., Rettew, D.C., Morley, C.P. & Hudziak, J.J. (2005). Family, twin, adoption, and molecular genetic studies of juvenile bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, *7*, 598-609.
- Alvestad, R.M., Grosshans, D.R., Coultrap, S.J., Nakazawa, T., Yamamoto, T. & Browning, M.D. (2003). Tyrosine dephosphorylation and ethanol inhibition of N-Methyl-D-aspartate receptor function. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*, 11020-11025.
- Amar, S., Belmaker, R.H. & Agam, G. (2011). The Possible Involvement of Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3) in Diabetes, Cancer and Central Nervous System Diseases. *Current Pharmaceutical Design*, *Ahead of print*.
- American Psychiatric Association (2000). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR Fourth Edition. *American Psychiatric Publishing*.
- Amrollahi, Z., Rezaei, F., Salehi, B., Modabbernia, A.H., Maroufi, A., Esfandiari, G.R., Naderi, M., Ghebleh, F., Ahmadi-Abhari, S.A., Sadeghi, M., Tabrizi, M. & Akhondzadeh, S. (2011). Double-blind, randomized, placebo-controlled 6-

- week study on the efficacy and safety of the tamoxifen adjunctive to lithium in acute bipolar mania. *Journal of Affective Disorders*, 129, 327-331.
- Anand, A., Li, Y., Wang, Y., Lowe, M.J. & Dzemidzic, M. (2009). Resting state corticolimbic connectivity abnormalities in unmedicated bipolar disorder and unipolar depression. *Psychiatry Research*, 171, 189-198.
- Andrasfalvy, B.K., Smith, M.A., Borchardt, T., Sprengel, R. & Magee, J.C. (2003). Impaired regulation of synaptic strength in hippocampal neurons from GluR1-deficient mice. *Journal of Physiology*, 552, 35-45.
- Andreopoulos, S., Li, P.P., Siu, K.P., Kish, S.J. & Warsh. J.J. (2003). Altered CTX-catalyzed and endogenous [32P]ADP-ribosylation of stimulatory G protein alphas isoforms in postmortem bipolar affective disorder temporal cortex. *Journal of Neuroscience Research*, 72, 638-645.
- Angrist, B. & Gershon, S. (1979). Variable attenuation of amphetamine effects by lithium. *American Journal of Psychiatry*, 136, 806-810.
- Antoniou, K., Papathanasiou, G., Panagis, G., Nomikos, G.G., Hyphantis, T. & Papadopoulou-Daifoti, Z. (2004). Individual responses to novelty predict qualitative differences in d-amphetamine-induced open field but not reward-related behaviors in rats. *Neuroscience*, 123, 613-623.
- Armstrong, S.M., McNulty, O.M., Guardiola-Lemaitre, B. & Redman, J.R. (1993). Successful use of S20098 and melatonin in an animal model of delayed sleep-phase syndrome (DSPS). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 46, 45-49.
- Arnone, D., McIntosh, A.M., Chandra, P. & Ebmeier, K.P. (2008). Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies of the corpus callosum in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 118, 357-362.
- Baldessarini, R.J. (2002). Treatment research in bipolar disorder: issues and recommendations. *CNS Drugs*, 16, 721-729.
- Baloch, H.A., Hatch, J.P., Olvera, R.L., Nicoletti, M., Caetano, S.C., Zunta-Soares, G.B. & Soares, J.C. (2010). Morphology of the subgenual prefrontal cortex in pediatric bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 44, 1106-1110.
- Baptista, T., Teneud, L., Contreras, Q., Burguera, J., Burguera, M. & Hernandez, L. (1993). Effects of acute and chronic lithium treatment on amphetamine-induced dopamine increase in the nucleus accumbens and prefrontal cortex in rats as studied by microdialysis. *Journal of Neural Transmission*, 94, 75-89.

- Barbosa, I.G., Huguet, R.B., Mendonça, V.A., Neves, F.S., Reis, H.J., Bauer, M.E., Janka, Z., Palotás, A. & Teixeira, A.L. (2010). Increased plasma levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with long-term bipolar disorder. *Neuroscience Letters*, 475, 95-98.
- Baum, A.E., Akula, N., Cabanero, M., Cardona, I., Corona, W., Klemens, B., Schulze, T.G., Cichon, S., Rietschel, M., Nöthen, M.M., Georgi, A., Schumacher, J., Schwarz, M., Abou Jamra, R., Höfels, S., Propping, P., Satagopan, J., Detera-Wadleigh, S.D., Hardy, J. & McMahon, F.J. (2008). A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase eta (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 13, 197-207.
- Bazinet, R.P., Weis, M.T., Rapoport, S.I. & Rosenberger, T.A. (2006). Valproic acid selectively inhibits conversion of arachidonic acid to arachidonoyl-CoA by brain microsomal long-chain fatty acyl-CoA synthetases: relevance to bipolar disorder. *Psychopharmacology (Berl)*, 184, 122-129.
- Bearden, C.E., Thompson, P.M., Dalwani, M., Hayashi, K.M., Lee, A.D., Nicoletti, M., Trakhtenbroit, M., Glahn, D.C., Brambilla, P., Sassi, R.B., Mallinger, A.G., Frank, E., Kupfer, D.J. & Soares, J.C. (2007). Greater cortical gray matter density in lithium-treated patients with bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 62, 7-16.
- Bearden, C.E., Woogen, M. & Glahn, D.C. (2010). Neurocognitive and neuroimaging predictors of clinical outcome in bipolar disorder. *Current Psychiatry Reports*, 12, 499-504.
- Beaulieu, J. (2011). A role for Akt and glycogen synthase kinase-3 as integrators of dopamine and serotonin neurotransmission in mental health. *Journal of Psychiatry Neuroscience*, Ahead of print.
- Beaulieu, J., Gainetdinov, R. & Caron, M. (2009). Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs. *Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology*, 49, 327-347.
- Beaulieu, J., Marion, S., Rodriguiz, R., Medvedev, I., Sotnikova, T., Guisi, V. & Caron, M. (2008). A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behaviour. *Cell*, 132, 125-136.

- Beaulieu, J., Sotnikova, T., Yao, W., Kockeritz, L., Woodgett, J., Gainetdinov, R. & Caron, M. (2004). Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 101*, 5099-5104.
- Bebchuk, J.M., Arfken, C.L., Dolan-Manji, S., Murphy, J., Hasanat, K. & Manji, H.K. (2000). A preliminary investigation of a protein kinase C inhibitor in the treatment of acute mania. *Archives of General Psychiatry, 57*, 95-97.
- Belmaker, R.H. (2004). Bipolar disorder. *New England Journal of Medicine, 351*, 476-486.
- Belmaker, R.H. & Agam, G. (2005). Bipolar disorder: Neurochemistry and drug mechanisms. *Discovery Medicine, 5*, 191-198.
- Benedetti, F., Serretti, A., Colombo, C., Lorenzi, C., Tubazio, V. & Smeraldi, E. (2004). A glycogen synthase kinase 3-beta promoter gene single nucleotide polymorphism is associated with age at onset and response to total sleep deprivation in bipolar depression. *Neuroscience Letters, 368*, 123-126.
- Beresford, T.P., Clapp, L., Martin, B., Wiberg, J.L., Alfors, J. & Beresford, H.F. (2005). Aripiprazole in schizophrenia with cocaine dependence: a pilot study. *Journal of Clinical Psychopharmacology, 25*, 363-366.
- Berggren, U., Tallstedt, L., Ahlenius, S. & Engel, J. (1978). The effect of lithium on amphetamine-induced locomotor stimulation. *Psychopharmacology (Berl), 59*, 41-45.
- Bermpohl, F., Kahnt, T., Dalanay, U., Hägele, C., Sajonz, B., Wegner, T., Stoy, M., Adli, M., Krüger, S., Wrase, J., Ströhle, A., Bauer, M. & Heinz, A. (2010). Altered representation of expected value in the orbitofrontal cortex in mania. *Human Brain Mapping, 31*, 958-969.
- Berrettini, W.H., Ferraro, T.N., Goldin, L.R., Weeks, D.E., Detera-Wadleigh, S., Nurnberger, J.I. & Gershon, E.S. (1994). Chromosome 18 DNA markers and manic-depressive illness: evidence for a susceptibility gene. *Proceedings of the National Academy of Science U. S. A., 91*, 5918-5921.
- Bespalov, A., Lebedev, A., Panchenko, G. & Zvartau, E. (1999). Effects of abused drugs on thresholds and breaking points of intracranial self-stimulation in rats. *European Neuropsychopharmacology, 9*, 377-383.

- Bersudsky, Y., Patishi, Y., Bitsch Jensen, J., Mørk, A., Kofman, O. & Belmaker, R.H. (1997). The effect of acute and chronic lithium on forskolin-induced reduction of rat activity. *Journal of Neural Transmission*, 104, 943-952.
- Beveridge, T.J., Smith, H.R., Nader, M.A. & Porrino, L.J. (2011). Group II metabotropic glutamate receptors in the striatum of non-human primates: dysregulation following chronic cocaine self-administration. *Neuroscience Letters*, 496, 15-19.
- Bezchlibnyk, Y. & Young, L.T. (2002). The neurobiology of bipolar disorder: focus on signal transduction pathways and the regulation of gene expression. *Canadian Journal of Psychiatry*, 47, 135-148.
- Birnbaum, S.G., Yuan, P.X., Wang, M., Vijayraghavan, S., Bloom, A.K., Davis, D.J., Gobeske, K.T., Sweatt, J.D., Manji, H.K. & Arnsten, A.F. (2004). Protein kinase C overactivity impairs prefrontal cortical regulation of working memory. *Science*, 306, 882-884.
- Blackwood, D.H., He, L., Morris, S.W., McLean, A., Whitton, C., Thomson, M., Walker, M.T., Woodburn, K., Sharp, C.M., Wright, A.F., Shibasaki, Y., St Clair, D.M., Porteous, D.J. & Muir, W.J. (1996). A locus for bipolar affective disorder on chromosome 4p. *Nature genetics*, 12, 427-430.
- Blundon, J.A. & Zakharenko, S.S. (2008). Dissecting the Components of Long-Term Potentiation. *Neuroscientist*, 14, 598-608.
- Boeckeler, K., Adley, K., Xu, X., Jenkins, A., Jin, T. & Williams, R.S. (2006). The neuroprotective agent, valproic acid, regulates the mitogen-activated protein kinase pathway through modulation of protein kinase A signalling in *Dictyostelium discoideum*. *European Journal of Cell Biology*, 85, 1047-1057.
- Böer, U., Cierny, I., Krause, D., Heinrich, A., Lin, H., Mayr, G., Hiemke, C. & Knepel, W. (2008). Chronic lithium salt treatment reduces CRE/CREB-directed gene transcription and reverses its upregulation by chronic psychosocial stress in transgenic reporter gene mice. *Neuropsychopharmacology*, 33, 2407-2415.
- Borgkvist, A., Usiello, A., Greengard, P. & Fisone, G. (2007). Activation of the cAMP/PKA/DARPP-32 signaling pathway is required for morphine psychomotor stimulation but not for morphine reward. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1995-2003.
- Borison, R.L., Sabelli, H.C., Maple, P.J., Havdala, H.S. & Diamond, B.I. (1978). Lithium prevention of amphetamine-induced 'manic' excitement and of

- reserpine-induced 'depression' in mice: possible role of 2-phenylethylamine. *Psychopharmacology (Berl)*, 59, 259-262.
- Bosetti, F., Seemann, R., Bell, J.M., Zahorchak, R., Friedman, E. & Rapoport, S.I. (2002). Analysis of gene expression with cDNA microarrays in rat brain after 7 and 42 days of oral lithium administration. *Brain Research Bulletin*, 57, 205–209.
- Bossert, J.M. & Franklin, K.B. (2003). Reinforcing versus anticonvulsant drugs: effects on intracranial self-stimulation rate-frequency M50 indices. *Behavioral Brain Research*, 144, 243-247.
- Boudreau, A.C. & Wolf, M.E. (2005). Behavioral sensitization to cocaine is associated with increased AMPA receptor surface expression in the nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience*, 25, 9144-9151.
- Bowden, C.L. (1995). Predictors of response to divalproex and lithium. *Journal of Clinical Psychiatry*, 56, 25-30.
- Brambilla, P., Nicoletti, M.A. & Harenski, K. (2002) Anatomical MRI study of subgenual prefrontal cortex in bipolar and unipolar subjects. *Neuropsychopharmacology*, 27, 792–779.
- Brambilla, P., Perez, J., Barale, F., Schettini, G. & Soares, J.C. (2003). GABAergic dysfunction in mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 8, 721-737.
- Bronstein, J.M., Farber, D.B. & Wasterlain, C.G. (1993). Regulation of type-II calmodulin kinase: functional implications. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 18, 135-147.
- Browman, K.E., Kantor, L., Richardson, S., Badiani, A., Robinson, T.E. & Gnegy, M.E. (1998). Injection of the protein kinase C inhibitor Ro31-8220 into the nucleus accumbens attenuates the acute response to amphetamine: tissue and behavioral studies. *Brain Research*, 814, 112–119.
- Burgess, S., Geddes, J., Hawton, K., Townsend, E., Jamison, K. & Goodwin, G., (2001). Lithium for maintenance treatment of mood disorders. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. CD003013.
- Burris, K.D., Molski, T.F., Xu, C., Ryan, E., Tottori, K., Kikuchi, T., Yocca, F.D. & Molinoff, P.B. (2002). Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D2 receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302, 381-389.

- Bymaster, F.P. & Felder, C.C. (2002). Role of the cholinergic muscarinic system in bipolar disorder and related mechanism of action of antipsychotic agents. *Molecular Psychiatry*, 7, 57-63.
- Carlezon, W.A., Duman, R.S. & Nestler, E.J. (2005). The many faces of CREB. *Trends in Neurosciences*, 28, 436-445.
- Carlezon, W.A. & Thomas, M.J. (2009). Biological substrates of reward and aversion: a nucleus accumbens activity hypothesis. *Neuropharmacology*, 56, 122-132.
- Carlezon, W.A., Thome, J., Olson, V.G., Lane-Ladd, S.B., Brodtkin, E.S., Hiroi, N., Duman, R.S., Neve, R.L. & Nestler, E.J. (1998). Regulation of cocaine reward by CREB. *Science*, 282, 2272-2275.
- Carlezon, W.A. & Wise, R.A. (1996). Rewarding actions of phencyclidine and related drugs in nucleus accumbens shell and frontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 16, 3112-3122.
- Carli, M., Anand-Srivastava, M.B., Molina-Holgado, E., Dewar, K.M. & Reader, T.A. (1994). Effects of chronic lithium treatments on central dopaminergic receptor systems: G proteins as possible targets. *Neurochemistry International*, 24, 13-22.
- Carr, K.D., Yamamoto, N., Omura, M., Cabeza de Vaca, S. & Krahne, L. (2002). Effects of the D(3) dopamine receptor antagonist, U99194A, on brain stimulation and d-amphetamine reward, motor activity, and c-fos expression in ad libitum fed and food-restricted rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 163, 76-84.
- Carvalho, R.C., Fukushiro, D.F., Helfer, D.C., Callegaro-Filho, D., Trombin, T.F., Zanolenci, L.H., Sanday, L., Silva, R.H. & Frussa-Filho, R. (2009). Long-term haloperidol treatment (but not risperidone) enhances addiction-related behaviors in mice: role of dopamine D2 receptors. *Addiction Biology*, 14, 283-293.
- Cassens, G.P. & Mills, A.W. (1973). Lithium and amphetamine: opposite effects on threshold of intracranial reinforcement. *Psychopharmacologia*, 30, 283-290.
- Celano, E., Tiraboschi, E., Consogno, E., D'Urso, G., Mbakop, M.P., Gennarelli, M., de Bartolomeis, A., Racagni, G. & Popoli, M. (2003). Selective regulation of presynaptic calcium/calmodulin-dependent protein kinase II by psychotropic drugs. *Biological Psychiatry*, 53, 442-449.

- Cerullo, M.A., Adler, C.M., Delbello, M.P. & Strakowski, S.M. (2009). The functional neuroanatomy of bipolar disorder. *International Review of Psychiatry*, 21, 314-322.
- Chaddock, C.A., Barker, G.J., Marshall, N., Schulze, K., Hall, M.H., Fern, A., Walshe, M., Bramon, E., Chitnis, X.A., Murray, R. & McDonald, C. (2009). White matter microstructural impairments and genetic liability to familial bipolar I disorder. *British Journal of Psychiatry*, 194, 527-534.
- Chandler, R.A., Wakeley, J., Goodwin, G.M. & Rogers, R.D. (2009). Altered risk-aversion and risk-seeking behavior in bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 66, 840-846.
- Chang, P., Chandler, K.E., Williams, R.S. & Walker, M.C. (2010). Inhibition of long-term potentiation by valproic acid through modulation of cyclic AMP. *Epilepsia*, 51, 1533-1542.
- Chang, M., Contreras, M., Rosenberger, T., Rintala, J., Bell, J. & Rapoport, S. (2001). Chronic valproate treatment decreases the in vivo turnover of arachidonic acid in brain phospholipids: a possible common effect of mood stabilizers. *Journal of Neurochemistry*, 77, 796-803.
- Chang, M., Grange, E., Rabin, O., Bell, J. & Rapoport, S. (1997). Lithium decreases the turnover of arachidonate in several brain phospholipids. *Neuroscience Letters*, 220, 171-174.
- Chang, K., Karchemskiy, A., Barnea-Goraly, N., Garrett, A., Simeonova, D.I. & Reiss, A. (2005). Reduced amygdalar gray matter volume in familial pediatric bipolar disorder. *Journal of American Academy Child and Adolescent Psychiatry*, 44, 565-573.
- Chang, A., Li, P.P. & Warsh, J.J. (2003a). cAMP-Dependent protein kinase (PKA) subunit mRNA levels in postmortem brain from patients with bipolar affective disorder (BD). *Brain Research. Molecular Brain Research*, 116, 27-37.
- Chang, A., Li, P.P. & Warsh, J.J. (2003b). Altered cAMP-dependent protein kinase subunit immunolabeling in post-mortem brain from patients with bipolar affective disorder. *Journal of Neurochemistry*, 84, 781-791.
- Chen, G., Henter, I. & Manji, H. (2010). Translational research in bipolar disorder: emergin insights from genetically based models. *Molecular Psychiatry*, 15, 883-895.

- Chen, G., Huang, L. D., Jiang, Y. M. & Manji, H. K. (1999a). The mood-stabilizing agent valproate inhibits the activity of glycogen synthase kinase-3. *Journal of Neurochemistry*, *72*, 1327-1330.
- Chen, G. & Manji, H. K. (2006). The extracellular signal-regulated kinase pathway: an emerging promising target mood stabilizers. *Current Opinion in Psychiatry*, *19*, 313-323.
- Chen, G., Manji, H.K., Hawver, D.B., Wright, C.B. & Potter, W.Z. (1994). Chronic sodium valproate selectively decreases protein kinase C alpha and epsilon in vitro. *Journal of Neurochemistry*, *63*, 2361-2364.
- Chen, B., Wang, J.F., Hill, B.C. & Young, L.T. (1999c). Lithium and valproate differentially regulate brain regional expression of phosphorylated CREB and c-Fos. *Brain Research. Molecular Brain Research*, *70*, 45-53.
- Chen, G., Zeng, W. Z., Yuan, P. X., Huang, L. D., Jiang, Y. M., Zhao, Z. H. & Manji, H. K. (1999b). The moodstabilizing agents lithium and valproate robustly increase the levels of the neuroprotective protein bcl-2 in the CNS. *Journal of Neurochemistry*, *72*, 879-882.
- Chuang, D.M., Wang, Z. & Chiu, C.T. (2011). GSK-3 as a Target for Lithium-Induced Neuroprotection Against Excitotoxicity in Neuronal Cultures and Animal Models of Ischemic Stroke. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *4*, 15.
- Churchill, L., Swanson, C.J., Urbina, M. & Kalivas, P.W. (1999). Repeated cocaine alters glutamate receptor subunit levels in the nucleus accumbens and ventral tegmental area of rats that develop behavioral sensitization. *Journal of Neurochemistry*, *72*, 2397-2403.
- Citri, A. & Malenka, R. (2008). Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology Reviews*, *33*, 18-41.
- Clapp, P., Gibson, E.S., Dell'acqua, M.L. & Hoffman, P.L. (2010). Phosphorylation regulates removal of synaptic N-methyl-D-aspartate receptors after withdrawal from chronic ethanol exposure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *332*, 720-729.
- Coque, L., Mukherjee, S., Cao, J.L., Spencer, S., Marvin, M., Falcon, E., Sidor, M.M., Birnbaum, S.G., Graham, A., Neve, R.L., Gordon, E., Ozburn, A.R., Goldberg, M.S., Han, M.H., Cooper, D.C. & McClung, C.A. (2011). Specific role of VTA dopamine neuronal firing rates and morphology in the reversal of anxiety-

- related, but not depression-related behavior in the Clock Δ 19 mouse model of mania. *Neuropsychopharmacology*, 36, 1478-1488.
- Coulombe, D. & Miliareisis, E. (1987). Fitting intracranial self-stimulation data with growth models. *Behavioral Neuroscience*, 101, 209-214.
- Cousins, D. & Young, A. (2007). The armamentarium of treatments for bipolar disorder: a review of the literature. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 10, 411-431.
- Cox, C., Harrison-Read, P.E., Steinberg, H. & Tomkiewicz, M. (1971). Lithium attenuates drug-induced hyperactivity in rats. *Nature*, 232, 336-338.
- Craddock, N. & Owen, M.J. (2005). The beginning of the end for the Kraepelinian dichotomy. *British Journal of Psychiatry*, 186, 364-366.
- Cross, D.A., Alessi, D.R., Cohen, P., Andjelkovich, M. & Hemmings, B.A. (1995). Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature*, 378, 785-789.
- Cull-Candy, S.G., & Leszkiewicz, D.N. (2004). Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Science's: Signal Transduction Knockedges Environment*, 255, 16.
- Culm, K.E., Lugo-Escobar, N., Hope, B.T. & Hammer, R.P. (2004). Repeated quinpirole treatment increases cAMP-dependent protein kinase activity and CREB phosphorylation in nucleus accumbens and reverses quinpirole-induced sensorimotor gating deficits in rats. *Neuropsychopharmacology*, 29, 1823-1830.
- Dawson, E., Parfitt, E., Roberts, Q., Daniels, J., Lim, L., Sham, P., Nöthen, M., Propping, P., Lanczik, M. & Maier, W. (1995). Linkage studies of bipolar disorder in the region of the Darier's disease gene on chromosome 12q23-24.1. *American Journal of Medical Genetics*, 60, 94-102.
- Dean, C. (2000). Prasterone (DHEA) and mania. *The Annals of Pharmacotherapy*, 34, 1419-1422.
- Debanne, D., Gähwiler, B.H. & Thompson, S.M. (1997). Bidirectional associative plasticity of unitary CA3-CA1 EPSPs in the rat hippocampus in vitro. *Journal of Neurophysiology*, 77, 2851-2855.
- Deep-Soboslay, A., Iglesias, B., Hyde, T.M., Bigelow, L.B., Imamovic, V., Herman, M.M. & Kleinman, J.E. (2008). Evaluation of tissue collection for postmortem studies of bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, 10, 822-828.

- Del'guidice, T. & Beaulieu, J.M. (2008). Messing up with traffic: different effects of antipsychotic agents on glutamate receptor complexes in vivo. *Molecular Pharmacology*, 73, 1339-1342.
- De Oliveira, G.S., Ceresér, K.M., Fernandes, B.S., Kauer-Sant'Anna, M., Fries, G.R., Stertz, L., Aguiar, B., Pfaffenseller, B. & Kapczinski, F. (2009). Decreased brain-derived neurotrophic factor in medicated and drug-free bipolar patients. *Journal of Psychiatric Research*, 43, 1171-1174.
- Depoortere, R., Perrault, G. & Sanger, D.J. (1999). Intracranial self-stimulation under a progressive-ratio schedule in rats: effects of strength of stimulation, d-amphetamine, 7-OH-DPAT and haloperidol. *Psychopharmacology (Berl)*, 142, 221-229.
- Derkach, V., Barria, A. & Soderling, T.R. (1999). Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 96, 3269-3274.
- Derry, S. & Moore, A. (2007). Atypical antipsychotics in bipolar disorder: systematic review of randomised trials, *BMC Psychiatry*, 16, 7-40.
- de Sousa, R.T., van de Bilt, M.T., Diniz, B.S., Ladeira, R.B., Portela, L.V., Souza, D.O., Forlenza, O.V., Gattaz, W.F. & Machado-Vieira, R. (2011). Lithium increases plasma brain-derived neurotrophic factor in acute bipolar mania: a preliminary 4-week study. *Neuroscience Letters*, 494, 54-56.
- Devinsky, O., Morrell, M.J. & Vogt, B.A. (1995). Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain*, 118, 279-306.
- DiazGranados, N. & Zarate, C. (2008). A review of the preclinical and clinical evidence for protein kinase C as a target for drug development for bipolar disorder. *Current Psychiatry Reports*, 10, 510-519.
- Dickstein, D.P., Finger, E.C., Skup, M., Pine, D.S., Blair, J.R. & Leibenluft, E. (2010). Altered neural function in pediatric bipolar disorder during reversal learning. *Bipolar Disorder*, 12, 707-719.
- Diehl, D.J. & Gershon, S. (1992). The role of dopamine in mood disorders. *Comprehensive Psychiatry*, 33, 115-120.
- DiNieri, J., Nemeth, C., Parsegian, A., Carle, T., Gurevich, V., Gurevich, E., Neve, R., Nestler, E. & Carlezon, W. (2009). Altered sensitivity to rewarding and

- aversive drugs in mice with inducible disruption of CREB function within the nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience*, 29, 1855-1859.
- Dowlatshahi, D., MacQueen, G.M., Wang, J.F., Reisch, J.S. & Young, L.T. (1999). G Protein-coupled cyclic AMP signaling in postmortem brain of subjects with mood disorders: effects of diagnosis, suicide, and treatment at the time of death. *Journal of Neurochemistry*, 73, 1121-1126.
- Drevets, W.C., Gautier, C., Price, J.C., Kupfer, D.J., Kinahan, P.E., Grace, A.A., Price, J.L. & Mathis, C.A. (2001). Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. *Biological Psychiatry*, 49, 81-96.
- Drevets, W.C., Price, J.L., Simpson, J.R., Todd, R.D., Reich, T., Vannier, M. & Raichle, M.E. (1997). Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*, 386, 824-827.
- Drevets, W.C., Savitz, J. & Trimble, M. (2008). The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS Spectrums*, 13, 663-681.
- D'Souza, A., Onem, E., Patel, P., Ka Gamma, E. & Nankova, B. (2009). Valproic acid regulates catecholaminergic pathways by concentration-dependent threshold effects on TH mRNA synthesis and degradation. *Brain Research*, 1247, 1-10.
- Du, J., Creson, T.K., Wu, L.J., Ren, M., Gray, N.A., Falke, C., Wei, Y., Wang, Y., Blumenthal, R., Machado-Vieira, R., Yuan, P., Chen, G., Zhuo, M. & Manji, H.K. (2008). The role of the hippocampal GluR1 and GluR2 receptors in manic-like behaviour. *Journal of Neuroscience*, 28, 68-79.
- Du, J., Gray, N.A., Falke, C.A., Chen, W., Yuan, P., Szabo, S.T., Einat, H. & Manji, H.K. (2004b). Modulation of synaptic plasticity by antimanic agents: the role of AMPA glutamate receptor subunit 1 synaptic expression. *Journal of Neuroscience*, 24, 6578-6589.
- Du, J., Gray, N.A., Falke, C., Yuan, P., Szabo, S. & Manji, H.K. (2003). Structurally dissimilar antimanic agents modulate synaptic plasticity by regulating AMPA glutamate receptor subunit GluR1 synaptic expression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 378-380.
- Du, J., Quiroz, J., Yuan, P., Zarate, C. & Manji, H. (2004). Bipolar disorder: involvement of signaling cascades and AMPA receptor trafficking at synapses. *Neuron Glia Biology*, 1, 231-243.

- Du, J., Suzuki, K., Wei, Y., Wang, Y., Blumenthal, R., Chen, Z., Falke, C., Zarate, C.A. Jr. & Manji, H.K. (2007). The anticonvulsants lamotrigine, riluzole, and valproate differentially regulate AMPA receptor membrane localization: relationship to clinical effects in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, *32*, 793-802.
- Du, J., Wei, Y., Liu, L., Wang, Y., Khairova, R., Blumenthal, R., Tragon, T., Hunsberger, J., Machado-Vieira, R., Drevets, W., Wang, Y. & Manji, H. (2010). A kinesin signalling complex mediates the ability of the GSK-3 β to affect mood-associated behaviors, *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, *107*, 11573-11578.
- Dubovsky, S., Murphy, J., Thomas, M. & Rademacher, J. (1992). Abnormal intracellular calcium concentrations in platelets and lymphocytes of bipolar patients. *American Journal of Psychiatry*, *149*, 229-234.
- Dudman, J.T., Eaton, M.E., Rajadhyaksha, A., Macías, W., Taher, M., Barczak, A., Kameyama, K., Haganir, R. & Konradi C. (2003). Dopamine D1 receptors mediate CREB phosphorylation via phosphorylation of the NMDA receptor at Ser897-NR1. *Journal of Neurochemistry*, *87*, 922-934.
- Duncan, R.E. & Bazinet, R.P. (2010). Brain arachidonic acid uptake and turnover: implications for signaling and bipolar disorder. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *13*, 130-138.
- Dziedzicka-Wasylewska, M., Przewłocka, B. & Przewłocki, R. (1995). The effect of prolonged lithium administration on the cAMP level in the rat striatum. *Polish Journal of Pharmacology*, *47*, 115-120.
- Dziedzicka-Wasylewska, M. & Wedzony, K. (1996). The effect of prolonged administration of lithium on the level of dopamine D2 receptor mRNA in the rat striatum and nucleus accumbens. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, *56*, 29-34.
- Ebstein, R.P., Oppenheim, G., Ebstein, B.S., Amiri, Z. & Stessman, J. (1986). The cyclic AMP second messenger system in man: the effects of heredity, hormones, drugs, aluminum, age and disease on signal amplification. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, *10*, 323-353.
- Egan, M.F., Kojima, M., Callicott, J.H., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Bertolino, A., Zaitsev, E., Gold, B., Goldman, D., Dean, M., Lu, B. & Weinberger, D.R.

- (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 112, 257-269.
- Einat, H. (2006). Modelling facets of mania-new directions related to the notion of endophenotypes. *Journal of Psychopharmacology*, 20, 714-722.
- Einat, H., Manji, H.K. & Belmaker, R.H. (2003c). New approaches to modeling bipolar disorder. *Psychopharmacological Bulletin*, 37, 47– 63.
- Einat, H., Manji, H.K., Gould, T.D., Du, J. & Chen, G. (2003b). Possible involvement of the ERK signaling cascade in bipolar disorder: behavioral leads from the study of mutant mice. *Drugs News and Perspectives*, 16, 453-463.
- Einat, H., Yuan, P., Szabo, S., Dogra, S. & Manji, H.K. (2007). Protein Kinase C Inhibition by tamoxifen antagonizes manic-like behavior in rats: Implications for the development of novel therapeutics for Bipolar Disorder. *Neuropsychobiology*, 55, 123–131.
- Ena, S., de Kerchove d'Exaerde, A. & Schiffmann, S.N. (2011). Unraveling the differential functions and regulation of striatal neuron sub-populations in motor control, reward, and motivational processes. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5, 47.
- Ernst, M., Dickstein, D.P., Munson, S., Eshel, N., Pradella, A., Jazbec, S., Pine, D.S. & Leibenluft, E. (2004). Reward-related processes in pediatric bipolar disorder: a pilot study. *Journal of Affective Disorders*, 1, 89-101.
- Esteban, J.A., Shi, S.H., Wilson, C., Nuriya, M., Huganir, R.L. & Malinow, R. (2003). PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nature Neuroscience*, 6, 136–143.
- Fang, X., Yu, S.X., Lu, Y., Bast, R.C., Woodgett, J.R. & Mills, G.B. (2000). Phosphorylation and inactivation of glycogen synthase kinase 3 by protein kinase A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 97, 11960-11965.
- Feltenstein, M.W., Altar, C.A. & See, R.E. (2007). Aripiprazole blocks reinstatement of cocaine seeking in an animal model of relapse. *Biological Psychiatry*, 61, 582-590.
- Feltenstein, M.W., Do, P.H. & See, R.E. (2009). Repeated aripiprazole administration attenuates cocaine seeking in a rat model of relapse. *Psychopharmacology (Berl)*, 207, 401-411.

- Fernandes, B.S., Gama, C.S., Maria Ceresér, K., Yatham, L.N., Fries, G.R., Colpo, G., de Lucena, D., Kunz, M., Gomes, F.A. & Kapczinski, F. (2011). Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: A systematic review and meta-regression analysis. *Journal of Psychiatric Research*, 45, 995-1004.
- Ferreira, M.A., O'Donovan, M.C., Meng, Y.A., Jones, I.R., Ruderfer, D.M., Jones, L., Fan, J., Kirov, G., Perlis, R.H., Green, E.K., Smoller, J.W., Grozeva, D., Stone, J., Nikolov, I., Chambert, K., Hamshere, M.L., Nimgaonkar, V.L., Moskvina, V., Thase, M.E., Caesar, S., Sachs, G.S., Franklin, J., Gordon-Smith, K., Ardlie, K.G., Gabriel, S.B., Fraser, C., Blumenstiel, B., Defelice, M., Breen, G., Gill, M., Morris, D.W., Elkin, A., Muir, W.J., McGhee, K.A., Williamson, R., MacIntyre, D.J., MacLean, A.W., Robinson, M., Van Beck, M., Pereira, A.C., Kandaswamy, R., McQuillin, A., Collier, D.A., Bass, N.J., Young, A.H., Lawrence, J., Ferrier, I.N., Anjorin, A., Farmer, A., Curtis, D., Scolnick, E.M., McGuffin, P., Daly, M.J., Corvin, A.P., Holmans, P.A., Blackwood, D.H., Gurling, H.M., Owen, M.J., Purcell, S.M., Sklar, P., Craddock, N. & Wellcome Trust Case Control Consortium. (2008). Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nature Genetics*, 40, 1056-1058.
- Flagstad, P., Arnt, J. & Olsen, C.K. (2006). Classical as well as novel antipsychotic drugs increase self-stimulation threshold in the rat-similar mechanism of action? *European Journal of Pharmacology*, 544, 69-76.
- Flaisher-Grinberg, S., Overgaard, S. & Einat, H. (2009). Attenuation of high sweet solution preference by mood stabilizers: a possible mouse model for the increased reward-seeking domain of mania. *Journal of Neuroscience Methods*, 177, 44-50.
- Flaquer, A., Jamra, R.A., Etterer, K., Díaz, G.O., Rivas, F., Rietschel, M., Cichon, S., Nöthen, M.M. & Strauch, K. (2010). A new susceptibility locus for bipolar affective disorder in PAR1 on Xp22.3/Yp11.3. *American Journal of Medical Genetics, Neuropsychiatric Genetics*, 153, 1110-1114.
- Fleischhacker, W.W. (2005). Aripiprazole. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 6, 2091-2101.

- Foland, L.C., Altshuler, L.L., Bookheimer, S.Y., Eisenberger, N., Townsend, J. & Thompson, P.M. (2008). Evidence for deficient modulation of amygdala response by prefrontal cortex in bipolar mania. *Psychiatry Research*, 162, 27-37.
- Foland-Ross, L.C., Bookheimer, S.Y., Lieberman, M.D., Sugar, C.A., Townsend, J.D., Fischer, J., Torrisi, S., Penfold, C., Madsen, S.K., Thompson, P.M. & Altshuler, L.L. (2011). Normal amygdala activation but deficient ventrolateral prefrontal activation in adults with bipolar disorder during euthymia. *Neuroimage*, Ahead of print.
- Fountoulakis, K., Grunze, H., Panagiotidis, P. & Kaprinis, G. (2007). Treatment of bipolar depression: An update. *Journal of Affective Disorders*, 109, 21-34.
- Frangou, S., Kington, J., Raymont, V. & Shergill, S.S. (2008). Examining ventral and dorsal prefrontal function in bipolar disorder: a functional magnetic resonance imaging study. *European Psychiatry*, 23, 300-308.
- Frank, R.A., Tsibulsky, V., Grocki, S., Dashevsky, B., Kehne, J.H., Schmidt, C.J. & Sorensen, S.M. (1995). Mixed D2/5-HT2A antagonism of amphetamine-induced facilitation of brain stimulation reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52, 799-804.
- Frey, B.N., Valvassori, S.S., Réus, G.Z., Martins, M.R., Petronilho, F.C., Bardini, K., Dal-Pizzol, F., Kapczinski, F. & Quevedo, J. (2006). Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 31, 326-332.
- Frey, B.N., Walss-Bass, C., Stanley, J.A., Nery, F.G., Matsuo, K., Nicoletti, M.A., Hatch, J.P., Bowden, C.L., Escamilla, M.A. & Soares, J.C. (2007). Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects prefrontal energy metabolism in bipolar disorder. *Neuroreport*, 18, 1567-1570.
- Friedman, E., Hoau Yan, W., Levinson, D., Connell, T. & Singh, H. (1993). Altered platelet protein kinase C activity in bipolar affective disorder manic episode. *Biological Psychiatry*, 33, 520-525.
- Frost, R.E. & Messiha, F.S. (1983). Clinical uses of lithium salts. *Brain Research Bulletin*, 11, 219-231.
- Ftoui-Paquin, N., Alda, M., Grof, P., Chretien, N., Rouleau, G. & Turecki, G. (2001). Identification of three polymorphisms in the translated region of PLC-

- gamma1 and their investigation in lithium responsive bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics*, 105, 301-305.
- Fumagalli, F., Frasca, A., Racagni, G. & Riva, M.A. (2008). Dynamic regulation of glutamatergic postsynaptic activity in rat prefrontal cortex by repeated administration of antipsychotic drugs. *Molecular Pharmacology*, 73, 1484-1490.
- Gallistel, C.R. & Freyd, G. (1987). Quantitative determination of the effects of catecholaminergic agonists and antagonists on the rewarding efficacy of brain stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 26, 731-741.
- Gallistel, C.R. & Karras, D. (1984). Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 20, 73-77.
- Galo, A., Lapointe, S., Stip, E., Potvin, S. & Rompre, P.P. (2010). Quetiapine blocks cocaine-induced enhancement of brain stimulation reward. *Behavioural Brain Research*, 208, 163-168.
- Gao, C. & Wolf, M.E. (2007). Dopamine alters AMPA receptor synaptic expression and subunit composition in dopamine neurons of the ventral tegmental area cultured with prefrontal cortex neurons. *Journal of Neuroscience*, 27, 14275-14285.
- Gao, C. & Wolf, M.E. (2008). Dopamine receptors regulate NMDA receptor surface expression in prefrontal cortex neurons. *Journal of Neurochemistry*, 106, 2489-2501.
- Gasic, G.P., Barco, A., Avila, J. & Lerma, J. (2006). A meeting to remember: meeting on memory and related disorders. *EMBO Reports*, 7, 768-773.
- Geddes, J.R., Burgess, S., Hawton, K., Jamison, K. & Goodwin, G.M. (2004). Long-term lithium therapy for bipolar disorder: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Psychiatry*, 161, 217-222.
- Gerdjikov, T.V., Giles, A.C., Swain, S.N. & Beninger, R.J. (2007). Nucleus accumbens PKA inhibition blocks acquisition but enhances expression of amphetamine-produced conditioned activity in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 190, 65-72.
- Ghasemzadeh, M.B., Mueller, C. & Vasudevan, P. (2009). Behavioral sensitization to cocaine is associated with increased glutamate receptor trafficking to the

- postsynaptic density after extended withdrawal period. *Neuroscience*, 159, 414-426.
- Giambalvo, C. (1992). Protein kinase C and dopamine transport 2. Effects of amphetamine in vitro. *Neuropharmacology*, 31, 1211-1222.
- Girault, J., Valjent, E., Caboche, J. & Herve, D. (2007). ERK2: a logical and gate critical for drug-induced plasticity? *Current Opinion in Pharmacology*, 7, 77-85.
- Gnegy, M., Hong, P. & Ferrell, S. (1993). Phosphorylation of neuromodulin in rat striatum after acute and repeated intermittent amphetamine. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 20, 289-298.
- Goebel, S.M., Alvestad, R.M., Coultrap, S.J. & Browning, M.D. (2005). Tyrosine phosphorylation of the N-methyl-D-aspartate receptor is enhanced in synaptic membrane fractions of the adult rat hippocampus. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 142, 65-79.
- Goebel-Goody, S.M., Davies, K.D., Alvestad Linger, R.M., Freund, R.K. & Browning, M.D. (2009). Phospho-regulation of synaptic and extrasynaptic N-methyl-d-aspartate receptors in adult hippocampal slices. *Neuroscience*, 158, 1446-1459.
- Goode, N., Hughes, K., Woodgett, J.R. & Parker, P.J. (1992). Differential regulation of glycogen synthase kinase-3 beta by protein kinase C isotypes. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 16878-16882.
- Goto, Y., Yang, C.R. & Otani, S. (2010). Functional and dysfunctional synaptic plasticity in prefrontal cortex: roles in psychiatric disorders. *Biological Psychiatry*, 67, 199-207.
- Gould, T.D. & Einat, H. (2007). Animal models of bipolar disorder and mood stabilizer efficacy: a critical need for improvement. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 31, 825-831.
- Gould, T.J., Keith, R.A. & Bhat, R.V. (2001). Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. *Behavioral Brain Research*, 118, 95-105.
- Grande, I., Fries, G.R., Kunz, M. & Kapczinski, F. (2010). The role of BDNF as a mediator of neuroplasticity in bipolar disorder. *Psychiatry Investigation*, 7, 243-250.

- Grant, S.G., O'Dell, T.J., Karl, K.A., Stein, P.L., Soriano, P. & Kandel, E.R. (1992). Impaired long-term potentiation, spatial learning, and hippocampal development in fyn mutant mice. *Science*, 258, 1903-1910.
- Gyulai, L., Bowden, C.L., McElroy, S.L., Calabrese, J.R., Petty, F., Swann, A.C., Chou, J.C., Wassef, A., Risch, C.S., Hirschfeld, R.M., Nemeroff, C.B., Keck, P.E., Jr., Evans, D.L. & Wozniak, P.J. (2003). Maintenance efficacy of divalproex in the prevention of bipolar depression. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1374-1382.
- Hahn, C.G. & Friedman, E. (1999). Abnormalities in protein kinase C signaling and the pathophysiology of bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, 1, 81-86.
- Hahn, C., Umapathy, W., Wang, H., Koneru, R., Levinson, D. & Friedman, E. (2005). Lithium and valproic acid treatments reduce PKC activation and receptor-G protein coupling in platelets of bipolar manic patients. *Journal of Psychiatric Research*, 39, 355-363.
- Hallam, K.T., Olver, J.S., Horgan, J.E., McGrath, C. & Norman, T.R. (2005). Low doses of lithium carbonate reduce melatonin light sensitivity in healthy volunteers. *International Journal of Psychopharmacology*, 8, 255-259.
- Hammonds, M.D. & Shim, S.S. (2009). Effects of 4-week treatment with lithium and olanzapine on levels of brain-derived neurotrophic factor, B-cell CLL/lymphoma 2 and phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein in the sub-regions of the hippocampus. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 105, 113-119.
- Han, K., Kim, M.H., Seeburg, D., Seo, J., Verpelli, C., Han, S., Chung, H.S., Ko, J., Lee, H.W., Kim, K., Heo, W.D., Meyer, T., Kim, H., Sala, C., Choi, S.Y., Sheng, M. & Kim, E. (2009). Regulated RalBP1 binding to RalA and PSD-95 controls AMPA receptor endocytosis and LTD. *PLoS Biology*, 7, 1000187.
- Haney, M. & Spealman, R. (2008). Controversies in translational research: drug self-administration. *Psychopharmacology (Berl)*, 199, 403-419.
- Hankin, B.L. (2009). Etiology of Bipolar Disorder across the lifespan: Essential interplay with diagnosis, classification, and assessment. *Clinical Psychology*, 16, 227-230.
- Hao, Y., Creson, T., Zhang, L., Li, P., Du, F., Yuan, P., Gould, T. D., Manji, H. K. & Chen, G. (2004). Mood stabilizer valproate promotes ERK pathway-dependent

- cortical neuronal growth and neurogenesis. *Journal of Neuroscience*, 24, 6590-6599.
- Hasler, G., Drevets, W.C., Gould, T.D., Gottesman, I.I. & Manji, H.K. (2006). Toward constructing an endophenotype strategy for bipolar disorders. *Biological Psychiatry*, 60, 93-105.
- Hashimoto, R., Fujimaki, K., Jeong, M.R., Christ, L. & Chuang, D.M. (2003). Lithium-induced inhibition of Src tyrosine kinase in rat cerebral cortical neurons: a role in neuroprotection against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity. *FEBS Letters*, 538, 145-148.
- Hashimoto, R., Hough, C., Nakazawa, T., Yamamoto, T. & Chuang, D.M. (2002). Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. *Journal of Neurochemistry*, 80, 5895-5897.
- Hayashi, Y., Shi, S.H., Esteban, J.A., Piccini, A., Poncer, J.C. & Malinow, R. (2000). Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: Requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science*, 287, 2262-2267.
- Hibbeln, J., Palmer, J. & Davis, J. (1989). Are disturbances in lipid-protein interactions by phospholipase-A2 a predisposing factor in affective illness? *Biological Psychiatry*, 25, 945-961.
- Hirayasu, Y., Shenton, M.E., Salisbury, D.F, Kwon, J.S., Wible, C.G., Fischer, I.A., Yurgelun-Todd, D., Zarate, C., Kikinis, R., Jolesz, F.A. & McCarley, R.W. (1999). Subgenual cingulate cortex volume in first-episode psychosis. *American Journal of Psychiatry*, 156, 1091-1093.
- Hirose, T. & Kikuchi, T. (2005). Aripiprazole, a novel antipsychotic agent: dopamine D2 receptor partial agonist. *Journal of Medical Investigation*, 52, 284-290.
- Houghoghi, V., Rezaiof, A., Zyaian, S. & Zarrindast, M.R. (2009). Intradorsal hippocampal microinjection of lithium reverses morphine-induced impairment of memory in mice: interactions with dopamine receptor mechanism(s). *Behavioral Pharmacology*, 20, 680-687.
- Hozumi, Y., Fukaya, M., Adachi, N., Saito, N., Otani, K., Kondo, H., Watanabe, M. & Goto, K. (2008). Diacylglycerol kinase beta accumulates on the perisynaptic site of medium spiny neurons in the striatum. *European Journal of Neuroscience*, 28, 2409-14022.

- Hsieh, W.K., Lin, H.H. & Lai, C.C. (2009). Involvement of protein kinase C and Src tyrosine kinase in acute tolerance to ethanol inhibition of spinal NMDA-induced pressor responses in rats. *British Journal of Pharmacology*, 158, 806-818.
- Hurd, Y. (2002). Subjects with major depression or bipolar disorder show reduction of prodynorphin mRNA expression in discrete nuclei of the amygdaloid complex. *Molecular Psychiatry*, 7, 75-81.
- Ichikawa, J., Chung, Y.C., Dai, J. & Meltzer, H.Y. (2005a). Valproic acid potentiates both typical and atypical antipsychotic-induced prefrontal cortical dopamine release. *Brain Research*, 1052, 56-62.
- Ichikawa, J., Dai, J. & Meltzer, H.Y. (2005b). Lithium differs from anticonvulsant mood stabilizers in prefrontal cortical and accumbal dopamine release: role of 5-HT(1A) receptor agonism. *Brain Research*, 1049, 182-190.
- Ichikawa, J. & Meltzer, H.Y. (1999). Valproate and carbamazepine increase prefrontal dopamine release by 5-HT1A receptor activation. *European Journal of Pharmacology*, 380, 1-3.
- Impey, S., Mark, M., Villacres, E.C., Poser, S., Chavkin, C. & Storm, D.R. (1996). Induction of CRE-mediated gene expression by stimuli that generate long-lasting LTP in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 16, 973-982.
- Impey, S., McCorkle, S.R., Cha-Molstad, H., Dwyer, J.M., Yochum, G.S., Boss, J.M., McWeeney, S., Dunn, J.J., Mandel, G. & Goodman, R.H. (2004). Defining the CREB regulon: a genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions. *Cell*, 119, 1041-1054.
- Iwata, S., Hewlett, G., Ferrell, S., Kantor, L. & Gnegy, M. (1997a). Enhanced dopamine release and phosphorylation of synapsin I and neuromodulin in striatal synaptosomes after repeated amphetamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283, 1445-1452.
- Iwata, S., Hewlett, G. & Gnegy, M. (1997b). Amphetamine increases the phosphorylation of neuromodulin and synapsin I in the rat striatal synaptosomes. *Synapse*, 26, 281-291.
- Jacobsen, N., Daniels, J., Moorhead, S., Harrison, D., Feldman, E., McGuffin, P., Owen, M.J. & Craddock, N. (1993). Association study of bipolar disorder at the phospholipase A2 gene (PLA2A) in the Darier's disease (DAR) region of chromosome 12q23-q24.1. *Psychiatric Genetics*, 6, 195-199.

- Jacobsen, N., Franks, E., Owen, M. & Craddock, N. (1999). Mutational analysis of phospholipase A2A: a positional candidate susceptibility gene for bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 4, 274–279.
- Janowsky, D.S., el-Yousef, M.K., Davis, J.M. & Sekerke HJ. (1972). A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet*, 2, 632-635.
- Jensen, J.B., Mikkelsen, J.D. & Mørk, A. (2000b). Increased adenylyl cyclase type 1 mRNA, but not adenylyl cyclase type 2 in the rat hippocampus following antidepressant treatment. *European Neuropsychopharmacology*, 10, 105-111.
- Jensen, J.B. & Mørk, A. (1997). Altered protein phosphorylation in the rat brain following chronic lithium and carbamazepine treatments. *European Neuropsychopharmacology*, 7, 173-179.
- Jensen, J.B., Shimon, H. & Mørk, A. (2000). Abnormal protein phosphorylation in post-mortem brain tissue from bipolar patients. *Journal of Neural Transmission*, 107, 501-509.
- Jogia, J., Dima, D., Kumari, V. & Frangou, S. (2011). Frontopolar cortical inefficiency may underpin reward and working memory dysfunction in bipolar disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry*, Ahead of print.
- Johannessen, C. U. (2000). Mechanisms of action of valproate: a commentary. *Neurochemistry International*, 37, 103-111.
- Jope, R.S. (2011). Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 4, 16.
- Jope, R.S. & Roh, M.S. (2006). Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions. *Current Drug Targets*, 7, 1421-1434.
- Julien, R. (2003). Βασικές αρχές ψυχοφαρμακολογίας (Παναγής, Γ.). Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης.
- Kahn, D.A., Sachs, G.S., Printz, D.J., Carpenter, D., Docherty, J.P., Ross, R. (2000). Medication treatment of bipolar disorder 2000: a summary of the expert consensus guidelines. *Journal of Psychiatric Practise*, 6, 197-211.
- Kaladchibachi, S.A., Doble, B., Anthopoulos, N., Woodgett, J.R. & Manoukian, A.S. (2007). Glycogen synthase kinase 3, circadian rhythms, and bipolar disorder: a molecular link in the therapeutic action of lithium. *Journal of Circadian Rhythms*, 5, 1-12.

- Kalia, L.V., Gingrich, J.R. & Salter, M.W. (2004). Src in synaptic transmission and plasticity. *Oncogene*, 23, 8007-8016.
- Kalinichev, M. & Dawson, L.A. (2011). Evidence for antimanic efficacy of glycogen synthase kinase-3 (GSK3) inhibitors in a strain-specific model of acute mania. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14, 1051-1067.
- Kameyama, K., Lee, H.K., Bear, M.F. & Huganir, R.L. (1998). Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic long-term depression. *Neuron*, 21, 1163-1175.
- Kandel, E., Schwartz, J. & Jessel, T. (2003). Νευροεπιστήμη και Συμπεριφορά (Επιμέλεια: Καραμανλίδης, Α.). Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης.
- Kandel, E., Schwartz, J. & Jessel, T. (2006). Βασικές Αρχές Νευροεπιστημών 3 (Επιμέλεια: Βασιλόπουλος, Δ. & Σολδάτος, Κ.). Αθήνα: Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης.
- Karege, F., Perroud, N., Burkhardt, S., Schwald, M., Ballmann, E., La Harpe, R. & Malafosse, A. (2007). Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biological Psychiatry*, 61, 240-245.
- Karege, F., Schwald, M., Papadimitriou, P., Lachausse, C. & Cissé, M. (2004). The cAMP-dependent protein kinase A and brain-derived neurotrophic factor expression in lymphoblast cells of bipolar affective disorder. *Journal of Affective Disorders*, 79, 187-192.
- Kasper, S. (2003). Issues in the treatment of bipolar disorder. *European Neuropsychopharmacology*, 13, 37-42.
- Kelleher, R.J., Govindarajan, A. & Tonegawa, S. (2004). Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron*, 44, 59-73.
- Kempton, M.J., Geddes, J.R., Ettinger, U., Williams, S.C. & Grasby, P.M. (2008). Meta-analysis, database, and meta-regression of 98 structural imaging studies in bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry*, 65, 1017-1032.
- Kempton, M.J., Haldane, M., Jogia, J., Grasby, P.M., Collier, D. & Frangou, S. (2009). Dissociable brain structural changes associated with predisposition, resilience, and disease expression in bipolar disorder. *Journal of Neuroscience*, 29, 10863-10868.

- Kenny, P. (2011). Reward Mechanisms in Obesity: New Insights and Future Directions. *Neuron*, 69, 664-679.
- Kieseppä, T., van Erp, T.G., Haukka, J., Partonen, T., Cannon, T.D., Poutanen, V.P., Kaprio, J. & Lönqvist, J. (2003). Reduced left hemispheric white matter volume in twins with bipolar I disorder. *Biological Psychiatry*, 54, 896-905.
- Kihara, T., Shimohama, S., Sawada, H., Honda, K., Nakamizo, T., Shibasaki, H., Kume, T. & Akaike, A. (2001). alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block A beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 13541-13546.
- Kim, H., Rapoport, S. & Rao, J. (2011). Altered arachidonic acid cascade enzymes in postmortem brain from bipolar disorder patients. *Molecular Psychiatry*, 16, 419-428.
- Kim, A. J., Shi, Y., Austin, R. C. & Werstuck, G. H. (2005). Valproate protects cells from ER stress-induced lipid accumulation and apoptosis by inhibiting glycogen synthase kinase-3. *Journal of Cell Science*, 118, 89-99.
- Kim, H. & Thayer, S. (2009). Lithium increases synapse formation between hippocampal neurons by depleting phosphoinositides. *Molecular Pharmacology*, 75, 1021-1030.
- Koprivica, V., Regardie, K., Wolff, C., Fernald, R., Murphy, J.J., Kambayashi, J., Kikuchi, T. & Jordan, S. (2011). Aripiprazole protects cortical neurons from glutamate toxicity. *European Journal of Pharmacology*, 651, 73-76.
- Kovács, K.A., Steullet, P., Steinmann, M., Do, K.Q., Magistretti, P.J., Halfon, O. & Cardinaux, J.R. (2007). TORC1 is a calcium- and cAMP-sensitive coincidence detector involved in hippocampal long-term synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 104, 4700-4705.
- Kozlovsky, N., Amar, S., Belmaker, R. H. & Agam, G. (2006). Psychotropic drugs affect Ser9-phosphorylated GSK-3 beta protein levels in rodent frontal cortex. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9, 337-342.
- Kozlovsky, N., Belmaker, R.H. & Agam, G. (2000). Low GSK-3beta immunoreactivity in postmortem frontal cortex of schizophrenic patients. *American Journal of Psychiatry*, 157, 831-833.
- Kumar, A. (2011). Long-Term Potentiation at CA3-CA1 Hippocampal Synapses with Special Emphasis on Aging, Disease, and Stress. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 3, 7.

- Kupferschmidt, D.A. & Zakzanis, K.K. (2011). Toward a functional neuroanatomical signature of bipolar disorder: quantitative evidence from the neuroimaging literature, *193*, 71-79.
- Lau, C.G. & Zukin, R.S. (2007). NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, *8*, 413-426.
- Lauri, S.E., Palmer, M., Segerstrale, M., Vesikansa, A., Taira, T. & Collingridge, G.L. (2007). Presynaptic mechanisms involved in the expression of STP and LTP at CA1 synapses in the hippocampus. *Neuropharmacology*, *52*, 1-11.
- Lee, H.K. (2006). AMPA Receptor Phosphorylation in Synaptic Plasticity: Insights from Knockin Mice. Στο Kittler JT, Moss SJ, *The Dynamic Synapse: Molecular Methods in Ionotropic Receptor Biology*. Boca Raton (FL): CRC Press' 2006. Chapter 14. *Frontiers in Neuroscience*.
- Lee, H.K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M.F. & Huganir, R.L. (2000). Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature*, *405*, 955-959.
- Lee, Y., Hamamura, T., Ohashi, K., Fujiwara, Y. & Kuroda, S. (1999). The effect of lithium on methamphetamine-induced regional Fos protein expression in the rat brain. *Neuroreport*, *10*, 895-900.
- Lee, H.K., Kameyama, K., Huganir, R.L. & Bear, M.F. (1998). NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron*, *21*, 1151-1162.
- Lee, A.M. & Messing, R.O. (2008). Protein kinases and addiction. *Annals of New York Academy of Science*, *1141*, 22-57.
- Lee, H.J., Rao, J.S., Rapoport, S.I. & Bazinet, R.P. (2007). Antimanic therapies target brain arachidonic acid signaling: lessons learned about the regulation of brain fatty acid metabolism. *Prostaglandins Leukotriens and Essential Fatty Acids*, *77*, 239-246.
- Lee, H.K., Takamiya, K., Han, J.S., Man, H., Kim, C.H., Rumbaugh, G., Yu, S., Ding, L., He, C., Petralia, R.S., Wenthold, R.J., Gallagher, M. & Huganir, R.L. (2003). Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell*, *112*, 631-643.
- Leng, Y., Liang, M., Ren, M., Marinove, Z., Leeds, P. & Chang, D (2008). Neuroprotective effects of lithium and valproic acid or other histone deacetylase

- inhibitors in neurons: Roles of glycogen synthase kinase-3 inhibition. *The Journal of Neuroscience*, 28, 2576-2588.
- Lenox, R., Gould, T. & Manji, H. (2002). Endophenotypes in Bipolar Disorder. *American Journal of Medical Genetics: Neuropsychiatric Genetics*, 114, 391-406.
- Lenox, R.H. & Wang, L. (2003). Molecular basis of lithium action: integration of lithium-responsive signaling and gene expression networks. *Molecular Psychiatry*, 8, 135-144.
- Lesort, M., Greendorfer, A., Stockmeier, C., Johnson, G.V. & Jope, R.S. (1999). Glycogen synthase kinase-3 β , beta-catenin, and tau in postmortem bipolar brain. *Journal of Neural Transmission*, 106, 1217-1222.
- Li, X. & Jope, R.S. (2010). Is glycogen synthase kinase-3 a central modulator in mood regulation? *Neuropsychopharmacology*, 35, 2143-2154.
- Li, X., Liu, M., Cai, Z., Wang, G. & Li, X. (2010). Regulation of glycogen synthase kinase-3 during bipolar mania treatment. *Bipolar Disorder*, 12, 741-152.
- Liang, M.H., Wendland, J.R. & Chuang, D.M. (2008). Lithium inhibits Smad3/4 transactivation via increased CREB activity induced by enhanced PKA and AKT signaling. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 37, 440-453.
- Liao, D., Scannevin, R.H. & Huganir, R. (2001a). Activation of silent synapses by rapid activity-dependent synaptic recruitment of AMPA receptors. *Journal of Neuroscience*, 21, 6008-6017.
- Liao, G.Y., Wagner, D.A., Hsu, M.H. & Leonard, J.P. (2001). Evidence for direct protein kinase-C mediated modulation of N-methyl-D-aspartate receptor current. *Molecular Pharmacology*, 59, 960-964.
- Lile, J.A., Stoops, W.W., Vansickel, A.R., Glaser, P.E., Hays, L.R. & Rush, C.R. (2005). Aripiprazole attenuates the discriminative-stimulus and subject-rated effects of D-amphetamine in humans. *Neuropsychopharmacology*, 30, 2103-2114.
- Lin, D., Bruijnzeel, A.W., Schmidt, P. & Markou, A. (2002). Exposure to chronic mild stress alters thresholds for lateral hypothalamic stimulation reward and subsequent responsiveness to amphetamine. *Neuroscience*, 114, 925-933.

- Lin, Y., Jover-Mengual, T., Wong, J., Bennett, M.V. & Zukin, R.S. (2006). PSD-95 and PKC converge in regulating NMDA receptor trafficking and gating. *Proceedings of National Academy of Sciences U. S. A.*, 103, 19902-19907.
- Lisman, J. (1994). The CaM kinase II hypothesis for the storage of synaptic memory. *Trends in Neurosciences*, 17, 406-412.
- Liu X, Hairston J, Schrier M, Fan J. (2011). Common and distinct networks underlying reward valence and processing stages: a meta-analysis of functional neuroimaging studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35, 1219-1236.
- Liu, Z.H, Shin, R. & Ikemoto, S. (2008). Dual role of medial A10 dopamine neurons in affective encoding. *Neuropsychopharmacology*, 33, 3010-3020.
- Lockard, J. S. & Levy, R. H. (1976). Valproic acid: reversibly acting drug? *Epilepsia*, 17, 477-479.
- Løvlie, R., Berle, J.O., Stordal, E. & Steen, V.M. (2003). The phospholipase C-gamma1 gene (PLCG1) and lithium-responsive bipolar disorder: re-examination of an intronic dinucleotide repeat polymorphism. *Psychiatric Genetics*, 11, 41-43.
- Lu, W., Chen, H., Xue, C.J. & Wolf, M.E. (1997). Repeated amphetamine administration alters the expression of mRNA for AMPA receptor subunits in rat nucleus accumbens and prefrontal cortex. *Synapse*, 26, 269-280.
- Lu, Y.F., Kandel, E.R. & Hawkins, R.D. (1999). Nitric oxide signaling contributes to late-phase LTP and CREB phosphorylation in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 19, 10250-10261.
- Lu, W. & Wolf, M.E. (1999). Repeated amphetamine administration alters AMPA receptor subunit expression in rat nucleus accumbens and medial prefrontal cortex. *Synapse*, 32, 119-131.
- Ma, J. & Zhang, G.Y. (2003). Lithium reduced N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A tyrosine phosphorylation and its interactions with Src and Fyn mediated by PSD-95 in rat hippocampus following cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*, 348, 185-189.
- Mack, V., Burnashev, N., Kaiser, K.M., Rozov, A., Jensen, V., Hvalby, O., Seeburg, P.H., Sakmann, B. & Sprengel, R. (2001). Conditional restoration of

- hippocampal synaptic potentiation in Glur-A-deficient mice. *Science*, 292, 2501-2504.
- Mahon, K., Burdick, K.E. & Szeszko, P.R. (2010). A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34, 533-554.
- Mailman, R. & Murthy, V. (2010). Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? *Current Pharmaceutical Design*, 16, 488-501.
- Malenka, R.C. & Bear, M.F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 44, 5-21.
- Malinow, R. & Malenka, R.C. (2002). AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annual Reviews in Neuroscience*, 25, 103-126.
- Mallinger, A.G., Thase, M.E., Haskett, R., Battenfield, J., Luckenbaugh, D.A., Frank, E., Kupfer, D.J. & Manji, H.K. (2008). Verapamil augmentation of lithium treatment improves outcome in mania unresponsive to lithium alone: preliminary findings and a discussion of therapeutic mechanisms. *Bipolar Disorders*, 10, 856-866.
- Manji, H.K. & Chen, G. (2002). PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. *Molecular Psychiatry*, 7, 46-56.
- Manji, H.K., Chen, G., Hsiao, J.K., Risby, E.D., Masana, M.I. & Potter, W.Z. (1996). Regulation of signal transduction pathways by mood-stabilizing agents: implications for the delayed onset of therapeutic efficacy. *Journal of Clinical Psychiatry*, 13, 34-46.
- Manji, H.K., Chen, G., Shimon, H., Hsiao, J.K., Potter, W.Z. & Belmaker, R.H. (1995). Guanine nucleotide-binding proteins in bipolar affective disorder. Effects of long-term lithium treatment. *Archives of General Psychiatry*, 52, 135-144.
- Manji, H.K. & Duman, R.S. (2001): Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: Implications for the development of novel therapeutics. *Psychopharmacological Bulletin*, 35, 45– 49.
- Manji, H.K. & Lenox, R.H. (1999). Ziskind-Somerfeld Research Award. Protein kinase C signaling in the brain: molecular transduction of mood stabilization in the treatment of manic-depressive illness. *Biological Psychiatry*, 46, 1328-1351.

- Manji, H.K., Moore, G.J., Rajkowska, G. & Chen, G. (2000). Neuroplasticity and cellular resilience in mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 5, 578-593.
- Mann, L., Heldman, E., Bersudsky, Y., Vatner, S.F., Ishikawa, Y., Almog, O., Belmaker, R.H. & Agam, G. (2009). Inhibition of specific adenylyl cyclase isoforms by lithium and carbamazepine, but not valproate, may be related to their antidepressant effect. *Bipolar Disorder*, 11, 885-896.
- Mann, L., Heldman, E., Shaltiel, G., Belmaker, R.H. & Agam, G. (2008). Lithium preferentially inhibits adenylyl cyclase V and VII isoforms. *International Journal of Psychopharmacology*, 11, 533-539.
- Mao, Y., Ge, X., Frank, C.L., Madison, J.M., Koehler, A.N., Doud, M.K., Tassa, C., Berry, E.M., Soda, T., Singh, K.K., Biechele, T., Petryshen, T.L., Moon, R.T., Haggarty, S.J. & Tsai, L.H. (2009). Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. *Cell*, 136, 1017-1031.
- Mao, L.M., Guo, M.L., Jin, D.Z., Fibuch, E.E., Choe, E.S. & Wang, J.Q. (2011). Post-translational modification biology of glutamate receptors and drug addiction. *Frontiers in Neuroanatomy*, 17, 5-19.
- Marmol, F. (2008). Lithium: Bipolar disorder and neurodegenerative diseases. Possible cellular mechanisms of the therapeutic effects of lithium. *Progress in Neuro-Psychopharmacology*, 32, 1761-1771.
- Mathew, S.J., Manji, H.K. & Charney, D.S. (2008). Novel drugs and therapeutic targets for severe mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 33, 2080-2092.
- Matsumura, S., Kunori, S., Mabuchi, T., Katano, T., Nakazawa, T., Abe, T., Watanabe, M., Yamamoto, T., Okuda-Ashitaka, E. & Ito, S. (2010). Impairment of CaMKII activation and attenuation of neuropathic pain in mice lacking NR2B phosphorylated at Tyr1472. *European Journal of Neuroscience*, 32, 798-810.
- Matsuo, T., Izumi, Y., Kume, T., Takada-Takatori, Y., Sawada, H. & Akaike, A. (2010). Protective effect of aripiprazole against glutamate cytotoxicity in dopaminergic neurons of rat mesencephalic cultures. *Neuroscience Letters*, 481, 78-81.
- McDonald, C., Bullmore, E.T., Sham, P.C., Chitnis, X., Wickham, H., Bramon, E. & Murray, R.M. (2004). Association of genetic risks for schizophrenia and bipolar disorder with specific and generic brain structural endophenotypes. *Archives of General Psychiatry*, 61, 974-984.

- McDonald, C., Marshall, N., Sham, P.C., Bullmore, E.T., Schulze, K., Chapple, B., Bramon, E., Filbey, F., Quraishi, S., Walshe, M. & Murray, R.M. (2006). Regional brain morphometry in patients with schizophrenia or bipolar disorder and their unaffected relatives. *American Journal of Psychiatry*, *163*, 478-487.
- McMahon, F.J., Hopkins, P.J., Xu, J., McInnis, M.G., Shaw, S., Cardon, L., Simpson, S.G., MacKinnon, D.F., Stine, O.C., Sherrington, R., Meyers, D.A. & DePaulo, J.R. (1997). Linkage of bipolar affective disorder to chromosome 18 markers in a new pedigree series. *American Journal of Human Genetics*, *61*, 1397-1404.
- Meini, M., Moncini, M., Cecconi, D., Cellesi, V., Biasci, L., Simoni, G., Ameglio, M., Pellegrini, M., Forgione, R.N. & Rucci, P. (2011). Aripiprazole and ropinirole treatment for cocaine dependence: evidence from a pilot study. *Current Pharmaceutical Design*, *17*, 1376-1383.
- Michelon, L., Meira-Lima, I., Cordeiro, Q., Migueta, K., Breen, G., Collier, D. & Vallada, H. (2006). Association study of the INPP1, 5HTT, BDNF, AP-2beta and GSK-3beta GENE variants and retrospectively scored response to lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Neuroscience Letters*, *403*, 288-293.
- Miki, M., Hamamura, T., Ujike, H., Lee, Y., Habara, T., Kodama, M., Ohashi, K., Tanabe, Y. & Kuroda, S. (2001). Effects of subchronic lithium chloride treatment on G-protein subunits (Golf, Ggamma7) and adenylyl cyclase expressed specifically in the rat striatum. *European Journal of Pharmacology*, *428*, 303-309.
- Miliaressis, E., Rompre, P.P., Laviolette, P., Philippe, L. & Coulombe, D. (1986). The curve-shift paradigm in self-stimulation. *Physiology Behavior*, *37*, 85-91.
- Minton, G.O., Young, A.H., McQuade, R., Fairchild, G., Ingram, C.D. & Gartside, S.E. (2009). Profound changes in dopaminergic neurotransmission in the prefrontal cortex in response to flattening of the diurnal glucocorticoid rhythm: implications for bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, *34*, 2265-2274.
- Miyamoto, E. (2005). Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *Journal of Pharmacological Sciences*, *100*, 433-442.
- Miyata, H., Itasaka, M., Kimura, N. & Nakayama, K. (2011). Decreases in brain reward function reflect nicotine- and methamphetamine-withdrawal aversion in rats. *Current Neuropharmacology*, *9*, 63-67.

- Moller, H.J. & Nasrallah, H.A. (2003). Treatment of bipolar disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, *64*, 9-17.
- Molnar, M., Potkin, S.G., Bunney, W.E. & Jones, E.G. (2003). MRNA expression patterns and distribution of white matter neurons in dorsolateral prefrontal cortex of depressed patients differ from those in schizophrenia patients. *Biological Psychiatry*, *53*, 39-47.
- Montes, M.I., Chaatouf, H. & Ferrer, J.M. (2005). Atypical antipsychotics produce within-session decrements on self-stimulation of the rat medial prefrontal cortex. *Frontiers in Bioscience*, *10*, 2595-2603.
- Montezinho, L.P., Mørk, A., Duarte, C.B., Penschuck, S., Geraldes, C.F. & Castro, M.M. (2007). Effects of mood stabilizers on the inhibition of adenylate cyclase via dopamine D(2)-like receptors. *Bipolar Disorder*, *9*, 290-297.
- Moretti, M., Valvassori, S.S., Steckert, A.V., Rochi, N., Benedet, J., Scaini, G., Kapczinski, F., Streck, E.L., Zugno, A.I. & Quevedo, J. (2011). Tamoxifen effects on respiratory chain complexes and creatine kinase activities in an animal model of mania. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *98*, 304-310.
- Mori, S., Zanardi, R., Popoli, M., Smeraldi, E., Racagni, G. & Perez, J. (1996). Inhibitory effect of lithium on cAMP dependent phosphorylation system. *Life Sciences*, *59*, 99-104.
- Mørk, A. (1993). Actions of lithium on the cyclic AMP signalling system in various regions of the brain--possible relations to its psychotropic actions. A study on the adenylate cyclase in rat cerebral cortex, corpus striatum and hippocampus. *Pharmacology & Toxicology*, *73*, 1-47.
- Mørk, A. & Geisler, A. (1995). A comparative study on the effects of tetracyclines and lithium on the cyclic AMP second messenger system in rat brain. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, *19*, 157-169.
- Mueller, S.C., Ng, P., Temple, V., Hardin, M.G., Pine, D.S., Leibenluft, E. & Ernst, M. (2010). Perturbed reward processing in pediatric bipolar disorder: an antisaccade study. *Journal of Psychopharmacology*, *24*, 1779-1784.
- Mukherjee, S., Coque, L., Cao, J.L., Kumar, J., Chakravarty, S., Asaithamby, A., Graham, A., Gordon, E., Enwright, J.F., DiLeone, R.J., Birnbaum, S.G., Cooper, D.C. & McClung, C.A. (2010). Knockdown of Clock in the ventral tegmental

- area through RNA interference results in a mixed state of mania and depression-like behavior. *Biological Psychiatry*, *15*, 503-511.
- Muzina, D., Momah, C., Eudicone, M., Pikalov, A., McQuade, R., Marcus, R., Sanchez, R. & Carlson, B. (2008). Aripiprazole monotherapy in patients with rapid-cycling bipolar I disorder: an analysis from a long-term double-blind, placebo-controlled study. *International Journal of Clinical Practice*, *62*, 679-687.
- Nakano, T., Doi, T., Yoshimoto, J. & Doya, K. (2010). A kinetic model of dopamine- and calcium-dependent striatal synaptic plasticity. *PLoS Computational Biology*, *12*, 6.
- Nakazawa, T., Komai, S., Tezuka, T., Hisatsune, C., Umemori, H., Semba, K., Mishina, M., Manabe., T. & Yamamoto, T. (2001). Characterization of Fyn-mediated Tyrosine Phosphorylation Sites on GluRε2 (NR2B) Subunit of the N-Methyl-D-aspartate Receptor. *Journal of Biological Chemistry*, *276*, 693-699.
- Nestler, E.J. (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, *47*, 24-32.
- Nestler, E., Hyman, S. & Malenka, R. (2008). *Molecular Neuropharmacology*. McGraw-Hill Companies.
- Newberg, A.R., Catapano, L.A., Zarate, C.A. & Manji, H.K. (2008). Neurobiology of bipolar disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *8*, 93-110.
- Newton, T.F., Reid, M.S., De La Garza, R., Mahoney, J.J., Abad, A. & Condos, R. (2008). Evaluation of subjective effects of aripiprazole and methamphetamine in methamphetamine-dependent volunteers. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *11*, 1037-1045.
- Nijholt, I., Blank, T., Ahi, J. & Spiess, J. (2002). In vivo CREB phosphorylation mediated by dopamine and NMDA receptor activation in mouse hippocampus and caudate nucleus. *Brain Research of Gene Experimental Patterns*, *1*, 101-106.
- Nishino, S., Ohtomo, K., Numata, Y., Sato, T., Nakahata, N. & Kurita, M. (2011). Divergent effects of lithium and sodium valproate on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) production in human astrocytoma cells at therapeutic concentrations. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, *Ahead of print*.

- Nishizuka, Y. (1992). Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science*, 258, 607-614.
- Novak, G., Seeman, P. & Tallerico, T. (2006). Increased expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IIbeta in frontal cortex in schizophrenia and depression. *Synapse*, 59, 61-68.
- O'Leary, H., Liu, W.H., Rorabaugh, J., Coultrap, S.J. & Bayer, K.U. (2011). Nucleotides and phosphorylation bi-directionally modulate CaMKII binding to the NMDA-receptor subunit GluN2B. *The Journal of Biological Chemistry*, Ahead of print.
- Omata, N., Murata, T., Takamatsu, S., Maruoka, N., Mitsuya, H., Yonekura, Y., Fujibayashi, Y. & Wada, Y. (2008). Neuroprotective effect of chronic lithium treatment against hypoxia in specific brain regions with upregulation of cAMP response element binding protein and brain-derived neurotrophic factor but not nerve growth factor: comparison with acute lithium treatment. *Bipolar Disorder*, 10, 360-368.
- Ou, Y., Ruan, Y., Cheng, M., Moser, J.J., Rattner, J.B. & van der Hoorn, F.A. (2009). Adenylate cyclase regulates elongation of mammalian primary cilia. *Experimental Cell Research*, 315, 2802-2817.
- Παναγής, Γ. (1998). Βιοψυχολογία της ενίσχυσης και του εθισμού. *Ψυχολογία*, 5, 71-83.
- Παναγής, Γ. (2002). Βιοψυχολογία της ενίσχυσης: Μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και ο ρόλος της ντοπαμίνης, *Ψυχολογία*, 9, 92-115.
- Panagis, G. & Spyraiki, C. (1996). Neuropharmacological evidence for the role of dopamine in ventral pallidum self-stimulation. *Psychopharmacology (Berl)*, 123, 280-288.
- Pandey, G.N., Dwivedi, Y., SridharaRao, J., Ren, X., Janicak, P.G. & Sharma, R. (2002). Protein kinase C and phospholipase C activity and expression of their specific isozymes is decreased and expression of MARCKS is increased in platelets of bipolar but not in unipolar patients. *Neuropsychopharmacology*, 26, 216-228.
- Pandey, G.N., Ren, X., Dwivedi, Y. & Pavuluri, M.N. (2008). Decreased protein kinase C (PKC) in platelets of pediatric bipolar patients: effect of treatment with mood stabilizing drugs. *Journal of Psychiatric Research*, 42, 106-116.

- Pandey, G.N., Ren, X., Rizavi, H.S. & Dwivedi, Y. (2010). Glycogen synthase kinase-3beta in the platelets of patients with mood disorders: effect of treatment. *Journal of Psychiatric Research*, *44*, 143-148.
- Park, S.W., Seo, M.K., Cho, H.Y., Lee, J.G., Lee, B.J., Seol, W. & Kim, Y.H. (2011). Differential effects of amisulpride and haloperidol on dopamine D2 receptor-mediated signaling in SH-SY5Y cells. *Neuropharmacology*, *61*, 761-769.
- Paxinos, G. & Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press.
- Pereira, M., Martynhak, B.J., Baretta, I.P., Correia, D., Siba, I.P. & Andreatini, R. (2011). Antimanic-like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. *Neuroscience Letters*, *500*, 95-98.
- Perez, J., Tardito, D., Mori, S., Racagni, G., Smeraldi, E. & Zanardi, R. (2000). Altered Rap1 endogenous phosphorylation and levels in platelets from patients with bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*, *34*, 99-104.
- Perlis, R.H., Ostacher, M.J., Patel, J.K., Marangell, L.B., Zhang, H., Wisniewski, S.R., Ketter, T.A., Miklowitz, D.J., Otto, M.W., Gyulai, L., Reilly-Harrington, N.A., Nierenberg, A.A., Sachs, G.S. & Thase, M.E. (2006). Predictors of recurrence in bipolar disorder: primary outcomes from the systematic treatment enhancement program for bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, *163*, 217-224.
- Perry, J.L., Joseph, J.E., Jiang, Y., Zimmerman, R.S., Kelly, T.H., Darna, M., Huettl, P., Dwoskin, L.P. & Bardo, M.T. (2011). Prefrontal cortex and drug abuse vulnerability: translation to prevention and treatment interventions. *Brain Research Reviews*, *65*, 124-149.
- Phillips, M.L. (2006). The neural basis of mood dysregulation in bipolar disorder. *Cognitive Neuropsychiatry*, *11*, 233-249.
- Phillips, A.G. & LePiane, G. (1980). Disruption of conditioned taste aversion in the rat by stimulation of amygdale: a conditioning effect, not amnesia. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *94*, 664-674.
- Pizzagalli, D.A., Goetz, E., Ostacher, M., Iosifescu, D.V. & Perlis, R.H. (2008). Euthymic patients with bipolar disorder show decreased reward learning in a probabilistic reward task. *Biological Psychiatry*, *64*, 162-168.

- Polter, A., Beurel, E., Yang, S., Garner, R., Song, L., Miller, C.A., Sweatt, J.D., McMahon, L., Bartolucci, A.A., Li, X. & Jope, R.S. (2010). Deficiency in the inhibitory serine-phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 increases sensitivity to mood disturbances. *Neuropsychopharmacology*, *35*, 1761-1774.
- Pozzi, L., Baviera, M., Sacchetti, G., Calcagno, E., Balducci, C., Invernizzi, R.W. & Carli, M. (2011). Attention deficit induced by blockade of N-methyl D-aspartate receptors in the prefrontal cortex is associated with enhanced glutamate release and cAMP response element binding protein phosphorylation: role of metabotropic glutamate receptors 2/3. *Neuroscience*, *176*, 336-348.
- Pozzi, L., Håkansson, K., Usiello, A., Borgkvist, A., Lindskog, M., Greengard, P. & Fisone, G. (2003). Opposite regulation by typical and atypical anti-psychotics of ERK1/2, CREB and Elk-1 phosphorylation in mouse dorsal striatum. *Journal of Neurochemistry*, *86*, 451-459.
- Quiroz, J.A., Gould, T.D. & Manji, H.K. (2004). Molecular effects of lithium. *Molecular Interventions*, *4*, 259-272.
- Quiroz, J.A., Gray, N.A., Kato, T. & Manji, H.K. (2008). Mitochondrially mediated plasticity in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, *33*, 2551-2565.
- Rajagopal, R. & Chao, M.V. (2006). A role for Fyn in Trk receptor transactivation by G-protein-coupled receptor signaling. *Molecular and Cellular Neurosciences*, *33*, 36-46.
- Rao, J.S., Lee, H.J., Rapoport, S.I. & Bazinet, R.P. (2008). Mode of action of mood stabilizers: is the arachidonic acid cascade a common target? *Molecular Psychiatry*, *13*, 585-596.
- Rao, R., Patel, S., Hao, C., Woodgett, J. & Harris, R. (2010). GSK3beta mediates renal response to vasopressin by modulating adenylate cyclase activity. *Journal of the American Society of Nephrology*, *21*, 428-437.
- Rao, J. & Rapoport, S. (2009). Mood-stabilizers target the brain arachidonic acid cascade. *Current Molecular Pharmacology*, *2*, 207-214.
- Rapoport, S.I., Basselin, M., Kim, H.W. & Rao, J.S. (2009). Bipolar disorder and mechanisms of action of mood stabilizers. *Brain Research Reviews*, *61*, 185-209.

- Rayasam, G.V., Tulasi, V.K., Sodhi, R., Davis, J.A. & Ray, A. (2009). Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. *British Journal of Pharmacology*, *156*, 885-898.
- Redman, J.R. & Francis, A.J. (1998). Entrainment of rat circadian rhythms by the melatonin agonist S-20098 requires intact suprachiasmatic nuclei but not the pineal. *Journal of Biological Rhythms*, *13*, 39-51.
- Reischies, F.M., Hartikainen, J. & Berghofer, A. (2002). Initial lithium and valproate combination therapy in acute mania. *Neuropsychobiology*, *46*, 22-27.
- Rho, J. M. & Sankar, R. (1999). The pharmacologic basis of antiepileptic drug action. *Epilepsia*, *40*, 1471 – 1483.
- Roberson, E.D., English, J.D. & Sweatt, J.D. (1996). A biochemist's view of long-term potentiation. *Learning & Memory*, *3*, 1-24.
- Rosenberg, G. (2007). The mechanisms of action of valproate in neuropsychiatric disorders: can we see the forest for the trees? *Cellular and Molecular Life Sciences*, *64*, 2090-2103.
- Rothrock, J. F. & Mendizabal, J. E. (2000). An analysis of the "carry-over effect" following successful short-term treatment of transformed migraine with divalproex sodium. *Headache*, *40*, 17 – 19.
- Roussos, P., Giakoumaki, S.G., Georgakopoulos, A., Robakis, N.K. & Bitsios, P. (2011). The CACNA1C and ANK3 risk alleles impact on affective personality traits and startle reactivity but not on cognition or gating in healthy males. *Bipolar Disorder*, *13*, 250-259.
- Roybal, K., Theobald, D., Graham, A., DiNieri, J.A., Russo, S.J., Krishnan, V., Chakravarty, S., Peevey, J., Oehrlein, N., Birnbaum, S., Vitaterna, M.H., Orsulak, P., Takahashi, J.S., Nestler, E.J., Carlezon, W.A. & McClung, C.A. (2007). Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. *Proceedings of National Academy of Sciences U. S. A.*, *104*, 6406-6411.
- Rowan, A. J. , Binnie, C. D. , Warfield, C. A., Meinardi, H. & Meijer, J. W. (1979). The delayed effect of sodium valproate on the photoconvulsive response in man. *Epilepsia*, *20*, 61 – 68.
- Rushlow, W.J., Seah, C., Sutton, L.P., Bjelica, A. & Rajakumar, N. (2009). Antipsychotics affect multiple calcium calmodulin dependent proteins. *Neuroscience*, *161*, 877-886.

- Rushworth, M.F., Noonan, M.P., Boorman, E.D., Walton, M.E. & Behrens, T.E. (2011). Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron*, 70, 1054-1069.
- Rybakowski, J.K., Czerski, P., Dmitrzak-Weglarz, M., Kliwicki, S., Leszczynska-Rodziewicz, A., Permoda-Osip, A., Skibinska, M., Suwalska, A., Szczepankiewicz, A. & Hauser, J. (2011). Clinical and pathogenic aspects of candidate genes for lithium prophylactic efficacy. *Journal of Pharmacology, Ahead of print*.
- Sabioni, P., Baretta, I.P., Ninomiya, E.M., Gustafson, L., Rodrigues, A.L. & Andreatini, R. (2008). The antimanic-like effect of tamoxifen: Behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32, 1927-1931.
- Sacktor, T.C. (2008). PKMzeta, LTP maintenance, and the dynamic molecular biology of memory storage. *Progress in Brain Research*, 169, 27-40.
- Saito, Y.D., Jensen, A.R., Salgia, R. & Posadas, E.M. (2010). Fyn: a novel molecular target in cancer. *Cancer*, 116, 1629-1637.
- Sakamoto, K., Karelina, K. & Obrietan, K. (2011). CREB: a multifaceted regulator of neuronal plasticity and protection. *Journal of Neurochemistry*, 116, 1-9.
- Salter, M.W., Dong, Y., Kalia, L.V., Liu, X.J. & Pitcher, G. (2009). Regulation of NMDA Receptors by Kinases and Phosphatases. In: Van Dongen AM, editor. Source. *Biology of the NMDA Receptor*. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Salvadore, G., Drevets, W.C., Henter, I.D., Zarate, C.A. & Manji, H.K. (2008). Early intervention in bipolar disorder, part II: therapeutics. *Early Intervention in Psychiatry*, 2, 136-146.
- Sanches, M., Sassi, R.B., Axelson, D., Nicoletti, M., Brambilla, P., Hatch, J.P., Keshavan, M.S., Ryan, N.D., Birmaher, B. & Soares, J.C. (2005). Subgenual prefrontal cortex of child and adolescent bipolar patients: a morphometric magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Research*, 138, 43-49.

- Sánchez-Pérez, A.M. & Felipo, V. (2005). Serines 890 and 896 of the NMDA receptor subunit NR1 are differentially phosphorylated by protein kinase C isoforms. *Neurochemistry International*, 47, 84-91.
- Sasaki, T., Han, F., Shioda, N., Moriguchi, S., Kasahara, J., Ishiguro, K. & Fukunaga, K. (2006). Lithium-induced activation of Akt and CaM kinase II contributes to its neuroprotective action in a rat microsphere embolism model. *Brain Research*, 1108, 98-106.
- Savina, T.A., Balashova, O.A. & Shchipakina, T.G. (2008). Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II--a target for sodium valproate? *Neuroscience and Behavioural Physiology*, 38, 99-102.
- Savitz, J.B., Nugent, A.C., Bogers, W., Roiser, J.P., Bain, E.E., Neumeister, A., Zarate, C.A., Manji, H.K., Cannon, D.M., Marrett, S., Henn, F., Charney, D.S. & Drevets, W.C. (2011). Habenula volume in bipolar disorder and major depressive disorder: a high-resolution magnetic resonance imaging study. *Biological Psychiatry*, 69, 336-343.
- Schaffer, C.B., Nordahl, T.E., Schaffer, L.C. & Howe, J. (2007). Mood-elevating effects of opioid analgesics in patients with bipolar disorder. *Journal of Neuropsychology and Clinical Neuroscience*, 19, 449-452.
- Scherk, H., Backens, M., Schneider-Axmann, T., Usher, J., Kemmer, C., Reith, W., Falkai, P. & Gruber, O. (2009). Cortical neurochemistry in euthymic patients with bipolar I disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 10, 285-294.
- Schloesser, R.J., Huang, J., Klein, P.S. & Manji, H.K. (2008). Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, 33, 110-133
- Schultz, W. (2002). Getting formal with dopamine and reward. *Neuron*, 36, 241-263.
- Seamans, J.K., Lapish, C.C. & Durstewitz, D. (2008). Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: insights from electrophysiology. *Neurotoxicity Research*, 14, 249-262.
- Seeger, T.F. & Gardner, E.L. (1979). Enhancement of self-stimulation behavior in rats and monkeys after chronic neuroleptic treatment: evidence for mesolimbic supersensitivity. *Brain Research*, 175, 49-57.

- Seeger, T.F., Gardner, E.L. & Bridger, W.F. (1981). Increase in mesolimbic electrical self-stimulation after chronic haloperidol: reversal by L-DOPA or lithium. *Brain Research*, 215, 404-409.
- Segnitz, N., Ferbert, T., Schmitt, A., Gass, P., Gebicke-Haerter, P.J. & Zink, M. (2011). Effects of chronic oral treatment with aripiprazole on the expression of NMDA receptor subunits and binding sites in rat brain. *Psychopharmacology (Berl)*, 217, 127-142.
- Serretti, A., Benedetti, F., Mandelli, L., Calati, R., Caneva, B., Lorenzi, C., Fontana, V., Colombo, C. & Smeraldi, E. (2008). Association between GSK-3beta -50T/C polymorphism and personality and psychotic symptoms in mood disorders. *Psychiatry Research*, 158, 132-140.
- Sesack, S.R. & Grace, A.A. (2010). Cortico-Basal Ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology*, 35, 27-47.
- Shapiro, D.A., Renock, S., Arrington, E., Chiodo, L.A., Liu, L.X., Sibley, D.R., Roth, B.L. & Mailman, R. (2003). Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1400-1411.
- Sharma, V., Persad, E., Mazmanian, D. & Karunaratne, K. (1993). Treatment of rapid cycling bipolar disorder with combination therapy of valproate and lithium. *Canadian Journal of Psychiatry*, 38, 137-139.
- Shi, J., Badner, J.A., Hattori, E., Potash, J.B., Willour, V.L., McMahon, F.J., Gershon, E.S. & Liu, C. (2008). Neurotransmission and bipolar disorder: a systematic family-based association study. *American Journal of Medical Genetics and Neuropsychiatric Genetics*, 147, 1270-1277.
- Shi, S.H., Hayashi, Y., Petralia, R.S., Zaman, S.H., Wenthold, R.J., Svoboda, K. & Malinow, R. (1999). Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science*, 284, 1811-1816.
- Sklar, P., Gabriel, S.B., McInnis, M.G., Bennett, P., Lim, Y.M., Tsan, G., Schaffner, S., Kirov, G., Jones, I., Owen, M., Craddock, N., DePaulo, J.R. & Lander, E.S. (2002). Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder: BDNF is a potential risk locus. Brain-derived neurotrophic factor. *Molecular Psychiatry*, 7, 579-593.
- Sköld, K., Svensson, M., Norrman, M., Sjögren, B., Svenningsson, P. & Andrén, P.E. (2007). The significance of biochemical and molecular sample integrity in brain

- proteomics and peptidomics: stathmin 2-20 and peptides as sample quality indicators. *Proteomics*, 7, 4445-4456.
- Solomon, D.A., Ryan, C.E., Keitner, G.I., Miller, I.W., Shea, M.T., Kazim, A. & Keller, M.B. (1997). A pilot study of lithium carbonate plus divalproex sodium for the continuation and maintenance treatment of patients with bipolar I disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 58, 95-99.
- Sørensen, G., Sager, T.N., Petersen, J.H., Brennum, L.T., Thøgersen, P., Hee Bengtsen, C., Thomsen, M., Wörtwein, G., Fink-Jensen, A. & Woldbye, D.P. (2008). Aripiprazole blocks acute self-administration of cocaine and is not self-administered in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 199, 37-46.
- Stein, D.J., Daniels, W.M., Savitz, J. & Harvey, B.H. (2008). Brain-derived neurotrophic factor: the neurotrophin hypothesis of psychopathology. *CNS Spectrums*, 13, 945-949.
- Steketee, J.D. (1993). Injection of the protein kinase inhibitor H7 into the A10 dopamine region blocks the acute responses to cocaine: behavioral and in vivo microdialysis studies. *Neuropharmacology*, 132, 1289-1297.
- Steketee, J.D. (1994). Intra-A10 injection of H7 blocks the development of sensitization to cocaine. *Neuroreport*, 6, 69-72.
- Stewart, R.J., Chen, B., Dowlatsahi, D., MacQueen, G.M. & Young, LT. (2001). Abnormalities in the cAMP signaling pathway in post-mortem brain tissue from the Stanley Neuropathology Consortium. *Brain Research Bulletin*, 55, 625-629.
- Stine, O.C., Xu, J., Koskela, R., McMahon, F.J., Gschwend, M., Friddle, C. Clark, C.D., McInnis, M.G., Simpson, S.G., Breschel, T.S., Vishio, E., Riskin, K., Feilotter, H., Chen, E., Shen, S., Folstein, S., Meyers, D.A., Botstein, D., Marr, T.G. & DePaulo, J.R. (1995). Evidence for linkage of bipolar disorder to chromosome 18 with a parent- of-origin effect. *American Journal of Human Genetics*, 57, 1384-1394.
- Stolk, P., Souverein, P.C., Wilting, I., Leufkens, H.G., Klein, D.F., Rapoport, S.I. & Heerdink, E.R. (2010). Is aspirin useful in patients on lithium? A pharmacoepidemiological study related to bipolar disorder. *Prostaglandins Leukotriens and Essential Fatty Acids*, 82, 9-14.

- Stoops, W.W. (2006). Aripiprazole as a potential pharmacotherapy for stimulant dependence: human laboratory studies with d-amphetamine. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, *14*, 413-421.
- Stoops, W.W., Lile, J.A., Glaser, P.E. & Rush, C.R. (2006). A low dose of aripiprazole attenuates the subject-rated effects of d-amphetamine. *Drug and Alcohol Dependence*, *84*, 206-209.
- Strakowski, S.M., Delbello, M.P. & Adler, C.M. (2005). The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging studies, *Molecular Psychiatry*, *10*, 105-116.
- Strakowski, S.M., Eliassen, J.C., Lamy, M., Cerullo, M.A., Allendorfer, J.B., Madore, M., Lee, J.H., Welge, J.A., DelBello, M.P., Fleck, D.E. & Adler, C.M. (2011). Functional magnetic resonance imaging brain activation in bipolar mania: evidence for disruption of the ventrolateral prefrontal-amygdala emotional pathway. *Biological Psychiatry*, *69*, 381-388.
- Strakowski, S.M., Fleck, D.E., DelBello, M.P., Adler, C.M., Shear, P.K., McElroy, S.L., Keck, P.E., Moss, Q., Cerullo, M.A., Kotwal, R. & Arndt, S. (2009). Characterizing impulsivity in mania. *Bipolar Disorder*, *11*, 41-51.
- Strange, P. (2008). Antipsychotic drug action: antagonism, inverse agonism or partial agonism. *Cell*, *165*, 314-421.
- Sublette, M., Russ, M. & Smith, G. (2004). Evidence for a role of the arachidonic acid cascade in affective disorders: a review. *Bipolar Disorder*, *6*, 95-105.
- Sun, X., Milovanovic, M., Zhao, Y. & Wolf, M.E. (2008). Acute and chronic dopamine receptor stimulation modulates AMPA receptor trafficking in nucleus accumbens neurons cocultured with prefrontal cortex neurons. *Journal of Neuroscience*, *28*, 4216-4230.
- Suwalska, A., Sobieska, M. & Rybakowski, J.K. (2010). Serum brain-derived neurotrophic factor in euthymic bipolar patients on prophylactic lithium therapy. *Neuropsychobiology*, *62*, 229-234.
- Svenningsson, P., Bateup, H., Qi, H., Takamiya, K., Huganir, R.L., Spedding, M., Roth, B.L., McEwen, B.S. & Greengard, P. (2007). Involvement of AMPA receptor phosphorylation in antidepressant actions with special reference to tianeptine. *European Journal of Neuroscience*, *26*, 3509-3517.

- Svenningsson, P., Tzavara, E.T., Witkin, J.M., Fienberg, A.A., Nomikos, G.G. & Greengard, P. (2002). Involvement of striatal and extrastriatal DARPP-32 in biochemical and behavioral effects of fluoxetine (Prozac). *Proceeding of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 99, 3182-3187.
- Szabo, S.T., Machado-Vieira, R., Yuan, P., Wang, Y., Wei, Y., Falke, C., Cirelli, C., Tononi, G, Manji, H.K. & Du, J. (2009). Glutamate receptors as targets of protein kinase C in the pathophysiology and treatment of animal models of mania. *Neuropharmacology*, 56, 47-55.
- Szczepankiewicz, A., Rybakowski, J.K., Skibinska, M., Dmitrzak-Weglarz, M., Leszczynska-Rodziewicz, A., Wilkosc, M. & Hauser, J. (2009a). FYN kinase gene: another glutamatergic gene associated with bipolar disorder? *Neuropsychobiology*, 59, 178-183.
- Szczepankiewicz, A., Rybakowski, J.K., Suwalska, A., Skibinska, M., Leszczynska-Rodziewicz, A., Dmitrzak-Weglarz, M., Czerski, P.M. & Hauser, J. (2006). Association study of the glycogen synthase kinase-3beta gene polymorphism with prophylactic lithium response in bipolar patients. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 7, 158-161.
- Szczepankiewicz, A., Skibinska, M., Suwalska, A., Hauser, J. & Rybakowski, J.K. (2009b). The association study of three FYN polymorphisms with prophylactic lithium response in bipolar patients. *Human Psychopharmacology*, 24, 287-291.
- Swann, A.C., Bowden, C.L., Morris, D., Calabrese, J.R., Petty, F., Small, J., Dilsaver, S.C. & Davis, J.M. (1997). Depression during mania. Treatment response to lithium or divalproex. *Archives of General Psychiatry*, 54, 37-42.
- Tadori, Y., Forbes, R.A., McQuade, R.D. & Kikuchi, T. (2011). In vitro pharmacology of aripiprazole, its metabolite and experimental dopamine partial agonists at human dopamine D(2) and D(3) receptors. *European Journal of Pharmacology*, Ahead of print.
- Takigawa, M., Fukuzako, H., Ueyama, K. & Tominaga, H. (1994). Intracranial self-stimulation and locomotor traces as indicators for evaluating and developing antipsychotic drugs. *The Japanese Journal of Psychiatry and Neurology*, 48, 127-132.
- Tardito, D., Mori, S., Racagni, G., Smeraldi, E., Zanardi, R. & Perez, J. (2003). Protein kinase A activity in platelets from patients with bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, 76, 249-253.

- Tardito, D., Tiraboschi, E., Kasahara, J., Racagni, G. & Popoli M. (2007). Reduced CREB phosphorylation after chronic lithium treatment is associated with down-regulation of CaM kinase IV in rat hippocampus. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 10, 491-496.
- The Wellcome Trust Case Control Consortium (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447, 661-678.
- Todtenkopf, M.S., Parsegian, A., Naydenov, A., Neve, R.L., Konradi, C. & Carlezon, W.A. (2006). Brain reward regulated by AMPA receptor subunits in nucleus accumbens shell. *Journal of Neuroscience*, 26, 11665-11669.
- Tomasiewicz, H.C., Mague, S.D., Cohen, B.M. & Carlezon, W.A. (2006). Behavioral effects of short-term administration of lithium and valproic acid in rats. *Brain Research*, 1093, 83-94.
- Tremblay, L.K., Naranjo, C.A., Cardenas, L., Herrmann, N. & Busto, U.E. (2002). Probing brain reward system function in major depressive disorder: altered response to dextroamphetamine. *Archives of General Psychiatry*, 59, 409-416.
- Tsai, A.C., Rosenlicht, N.Z., Jureidini, J.N., Parry, P.I., Spielmans, G.I. & Healy, D. (2011). Aripiprazole in the maintenance treatment of bipolar disorder: a critical review of the evidence and its dissemination into the scientific literature. *PLoS Medicine*, Ahead of print.
- Turecki, G., Grof, P., Cavazzoni, P., Duffy, A., Grof, E., Ahrens, B., Berghöfer, A., Müller-Oerlinghausen, B., Dvoráková, M., Libigerová, E., Vojtechovský, M., Zvolský, P., Joobar, R., Nilsson, A., Prochazka, H., Licht, R.W., Rasmussen, N.A., Schou, M., Vestergaard, P., Holzinger, A., Schumann, C., Thau, K., Rouleau, G.A. & Alda, M. (1998). Evidence for a role of phospholipase C-gamma1 in the pathogenesis of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 3, 534-538.
- Turgeon, S.M., Pollack, A.E. & Fink, J.S. (1997). Enhanced CREB phosphorylation and changes in c-Fos and FRA expression in striatum accompany amphetamine sensitization. *Brain Research*, 749, 120-126.
- Usher, J., Menzel, P., Schneider-Axmann, T., Kemmer, C., Reith, W., Falkai, P., Gruber, O. & Scherk, H. (2010). Increased right amygdala volume in lithium-treated patients with bipolar I disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 121, 119-124.

- Vacheron-Trystram, M.N., Cheref, S., Gaillard, J. & Plas, J. (2002). A case report of mania precipitated by use of DHEA. *Encephale*, 28, 563-566.
- Van der Gucht, E., Morris, R., Lancaster, G., Kinderman, P. & Bentall, R.P. (2009). Psychological processes in bipolar affective disorder: negative cognitive style and reward processing. *The British Journal of Psychiatry*, 194, 146-151.
- Van der Schot, A., Vonk, R., Brans, R., van Haren, N.E., Koolschijn, P.C., Nuboer, V., Schnack, H.G., van Baal, G.C., Boomsma, D.I., Nolen, W.A., Hulshoff Pol, H.E. & Kahn, R.S. (2009). Influence of genes and environment on brain volumes in twin pairs concordant and discordant for bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry*, 66, 142-151.
- Van Ree, J.M. & Otte, A.P. (1980). Effects of (Des-Tyr1)-gamma-endorphin and alpha-endorphin as compared to haloperidol and amphetamine on nucleus accumbens self-stimulation. *Neuropharmacology*, 19, 429-434.
- Vieta, E., Gunther, O., Locklear, J., Ekman, M., Miltenburger, C., Lou Chatterton, M., Astrom, M. & Paulsson, B. (2011). Effectiveness of psychotropic medications in the maintenance phase of bipolar disorder: a meta-analysis of randomized controlled trials. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14, 1029-1049.
- Vigo, D.V. & Baldessarini, R.J. (2008). Anticonvulsants in the treatment of major depressive disorder: an overview. *Harvard Review of Psychiatry*, 17, 231-241.
- Walter, M., Henning, A., Grimm, S., Schulte, R.F., Beck, J., Dydak, U., Schnepf, B., Boeker, H., Boesiger, P. & Northoff, G. (2009). The relationship between aberrant neuronal activation in the pregenual anterior cingulate, altered glutamatergic metabolism, and anhedonia in major depression. *Archives of General Psychiatry*, 66, 478-486.
- Wang, J.F., Asghari, V., Rockel, C. & Young, L.T. (1999). Cyclic AMP responsive element binding protein phosphorylation and DNA binding is decreased by chronic lithium but not valproate treatment of SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neuroscience*, 91, 771-776.
- Wang, H.Y. & Friedman, E. (1996). Enhanced protein kinase C activity and translocation in bipolar affective disorder brains. *Biological Psychiatry*, 40, 568-575.
- Wang, F., Jackowski, M., Kalmar, J.H., Chepenik, L.G., Tie, K., Qiu, M., Gong, G., Pittman, B.P., Jones, M.M., Shah, M.P., Spencer, L., Papademetris, X.,

- Constable, R.T. & Blumberg, H.P. (2008). Abnormal anterior cingulum integrity in bipolar disorder determined through diffusion tensor imaging. *British Journal of Psychiatry*, *193*, 126-129.
- Wang, H.Y., Markowitz, P., Levinson, D., Undie, A.S. & Friedman, E. (1999). Increased membrane-associated protein kinase C activity and translocation in blood platelets from bipolar affective disorder patients. *Journal of Psychiatric Research*, *33*, 171-179.
- Wee, S., Wang, Z., Woolverton, W.L., Pulvirenti, L. & Koob, G.F. (2007). Effect of aripiprazole, a partial dopamine D2 receptor agonist, on increased rate of methamphetamine self-administration in rats with prolonged session duration. *Neuropsychopharmacology*, *32*, 2238-2247.
- Westphal, R.S., Tavalin, S.J., Lin, J.W., Alto, N.M., Fraser, I.D., Langeberg, L.K., Sheng, M. & Scott, J.D. (1999). Regulation of NMDA receptors by an associated phosphatase-kinase signaling complex. *Science*, *285*, 93-96.
- Whalley, H.C., Sussmann, J.E., Chakirova, G., Mukerjee, P., Peel, A., McKirdy, J., Hall, J., Johnstone, E.C., Lawrie, S.M. & McIntosh, A.M. (2011). The neural basis of familial risk and temperamental variation in individuals at high risk of bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, *70*, 343-349.
- Wilkinson, M.B., Dias, C., Magida, J., Mazei-Robison, M., Lobo, M., Kennedy, P., Dietz, D., Covington, H., Russo, S., Neve, R., Ghose, S., Tamminga, C. & Nestler, E.J. (2011). A novel role of the WNT-dishevelled-GSK3 β signaling cascade in the mouse nucleus accumbens in a social defeat model of depression. *Journal of Neuroscience*, *31*, 9084-9092.
- Wilting, I., Baumgarten, R., Movig, K.L., van Laarhoven, J., Apperloo, A.J., Nolen, W.A., Heerdink, E.R., Knoers, N.V. & Egberts, A.C. (2007). Urine osmolality, cyclic AMP and aquaporin-2 in urine of patients under lithium treatment in response to water loading followed by vasopressin administration. *European Journal of Pharmacology*, *566*, 50-57.
- Wise, R.A. (1996). Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual Reviews of Neuroscience*, *19*, 319-340.
- Wolf, M. (2010). Regulation of AMPA receptor trafficking in the nucleus accumbens by dopamine and cocaine. *Neurotoxicity Research*, *18*, 393-409.

- Wright, K.A., Lam, D. & Brown, R.G. (2008). Dysregulation of the behavioral activation system in remitted bipolar I disorder. *Journal of Abnormal Psychology, 117*, 838-848.
- Xing, G., Russell, S., Hough, C., O'Grady, J., Zhang, L., Yang, S., Zhang, L.X. & Post, R. (2002). Decreased prefrontal CaMKII alpha mRNA in bipolar illness. *Neuroreport, 13*, 501-505.
- Yamada, K. & Nabeshima, T. (2003). Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *Journal of Pharmacological Sciences, 91*, 267-270.
- Yamasaki, N., Maekawa, M., Kobayashi, K., Kajii, Y., Maeda, J., Soma, M., Takao, K., Tanda, K., Ohira, K., Toyama, K., Kanzaki, K., Fukunaga, K., Sudo, Y., Ichinose, H., Ikeda, M., Iwata, N., Ozaki, N., Suzuki, H., Higuchi, M., Sahara, T., Yuasa, S. & Miyakawa, T. (2008). Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. *Molecular Brain, 1*, 6.
- Yan, Z., Feng, J., Fienberg, A. & Greengard, P. (1999). D₂ dopamine receptors induce mitogen-activated protein kinase and cAMP response element-binding protein phosphorylation in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A., 96*, 11607-11612.
- Yan, J.Z., Xu, Z., Ren, S.Q., Hu, B., Yao, W., Wang, S.H., Liu, S.Y. & Lu, W. (2011). Protein Kinase C Promotes N-Methyl-D-aspartate (NMDA) Receptor Trafficking by Indirectly Triggering Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II (CaMKII) Autophosphorylation. *Journal of Biological Chemistry, 286*, 25187-25200.
- Yang, B.H., Son, H., Kim, S.H., Nam, J.H., Choi, J.H. & Lee, J.S. (2004). Phosphorylation of ERK and CREB in cultured hippocampal neurons after haloperidol and risperidone administration. *Psychiatry and Clinical Neurosciences, 58*, 262-267.
- Yang, T.T. & Wang, S.J. (2008). Aripiprazole and its human metabolite OPC14857 reduce, through a presynaptic mechanism, glutamate release in rat prefrontal cortex: possible relevance to neuroprotective interventions in schizophrenia. *Synapse, 62*, 804-818.

- Yashiro, K. & Philpot, B.D. (2008). Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology*, *55*, 1081-1094.
- Yildiz, A., Guleryuz, S., Ankerst, D.P., Ongür, D. & Renshaw, P.F. (2008). Protein kinase C inhibition in the treatment of mania: a double-blind, placebo-controlled trial of tamoxifen. *Archives of General Psychiatry*, *65*, 255-263.
- Young, L.T., Bezchlibnyk, Y.B., Chen, B., Wang, J.F. & MacQueen, G.M. (2004). Amygdala cyclic adenosine monophosphate response element binding protein phosphorylation in patients with mood disorders: effects of diagnosis, suicide, and drug treatment. *Biological Psychiatry*, *55*, 570-577.
- Young, L.T., Li, P.P., Kish, S.J., Siu, K.P., Kamble, A., Hornykiewicz, O. & Warsh, J.J. (1993). Cerebral cortex Gs alpha protein levels and forskolin-stimulated cyclic AMP formation are increased in bipolar affective disorder. *Journal of Neurochemistry*, *61*, 890-898.
- Yuan, P. X., Huang, L. D. , Jiang, Y. M. , Gutkind, J. S. , Manji, H. K. and Chen, G. (2001) The mood stabilizer valproic acid activates mitogen-activated protein kinases and promotes neurite growth. *Journal of Biological Chemistry*, *276*, 31674-31683.
- Zarate, C.A., Du, J., Quiroz, J., Gray, N.A., Denicoff, K.D., Singh, J., Charney, D.S. & Manji, H.K. (2003). Regulation of cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of mood disorders: role of the glutamatergic system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1003*, 273-291.
- Zarate, C. & Manji, H.K. (2008). Bipolar disorder: candidate drug targets. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, *75*, 226-247.
- Zarate, C. & Manji, H.K. (2009). Protein kinase C inhibitors: rationale for the use and potential in the treatment of bipolar disorder, *CNS Drugs*, *23*, 569-582.
- Zhang, J.Y., Kowal, D.M., Nawoschik, S.P., Lou, Z. & Dunlop, J.(2006). Distinct functional profiles of aripiprazole and olanzapine at RNA edited human 5-HT_{2C} receptor isoforms. *Biochemical Pharmacology*, *71*, 521-529.
- Zhang, X., Lee, T.H., Davidson, C., Lazarus, C., Wetsel, W.C. & Ellinwood, E.H. (2007). Reversal of cocaine-induced behavioral sensitization and associated phosphorylation of the NR2B and GluR1 subunits of the NMDA and AMPA receptors. *Neuropsychopharmacology*, *32*, 377-387.

Zhou, R., Gray, N.A., Yuan, P., Li, X., Chen, J., Chen, G., Damschroder-Williams, P., Du, J., Zhang, L. & Manji, H.K. (2005). The anti-apoptotic, glucocorticoid receptor cochaperone protein BAG-1 is a long-term target for the actions of mood stabilizers. *Journal of Neuroscience*, 25, 4493-4502.

Zhuo, M. (2009). Plasticity of NMDA receptor NR2B subunit in memory and chronic pain. *Molecular Brain*, 2, 4.

Zukin, R.S. & Bennett, M.V. (1995). Alternatively spliced isoforms of the NMDAR1 receptor subunit. *Trends in Neuroscience*, 18, 306-313.

