



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ:
ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΔΟΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΟΥ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ
ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ (NO) ΣΕ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ**



Υπεύθυνος καθηγητής: Ν. ΠΙΤΣΙΚΑΣ

Μέλη τριμελούς επιτροπής: Ν. Πιτσίκας, Α. Ε. Γερμενής, Α. Βασιλάκη

**Γουργιώτης Ιωάννης
Ειδικευόμενος Ιατρός**

Λάρισα, 2012-

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ι ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	4
ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ	4
ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	4
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	5
ΜΟΡΦΕΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ	6
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	11
ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	14
ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ	12
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	15
ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ	19
ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΚΑΙ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ	21
ΝΤΟΠΑΜΙΜΗ ΚΑΙ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ	24
ΝΤΟΠΑΜΙΝΗ ΚΑΙ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ	25
ΜΝΗΜΗ-ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΗ ΜΝΗΜΗ	25
ΑΠΟΜΟΡΦΙΝΗ	27

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	28
II ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	30
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ-ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ	30
Η ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΝΕΟΥ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΥ (ΔΑΝΑ)	30
ΦΑΡΜΑΚΑ	34
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	35
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΔΟΣΕΩΝ ΑΠΟΜΟΡΦΙΝΗΣ ΜΕΤΑ ΤΗ ΔΟΚΙΜΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΣΤΗ ΔΑΝΑ	35
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΔΟΤΩΝ ΤΟΥ ΝΟ ΜΟΛΣΙΔΟΜΙΝΗΣ ΚΑΙ SNP ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΝΟΣ L-NAME ΚΑΙ 7-NI ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΡΦΙΝΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΤΗΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΗΣ ΜΝΗΜΗΣ ΣΤΗ ΔΑΝΑ	37
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	38
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	50
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	58

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ

Η σχιζοφρένεια είναι μια σοβαρή ψυχιατρική διαταραχή. Κατά το παρελθόν οι σχιζοφρενικοί ασθενείς υπήρξαν θύματα ρατσισμού κι περιθωριοποίησης, ενώ η σχιζοφρένεια ακόμη και σήμερα αποτελεί για πολλούς ένα από τα μεγάλα ιατρικά μυστήρια.

Ο όρος σχιζοφρένεια προτάθηκε από τον Bleuer και σχηματίζεται από το ρήμα σχίζω και το ουσιαστικό φρήν-διάφραγμα- το οποίο θεωρούνταν το κατά την αρχαιότητα έδρα του συναισθηματικού κόσμου και των νοητικών λειτουργιών του ανθρώπου. Η σχιζοφρένεια είναι μια ψύχωση που οδηγεί σε λειτουργική έκπτωση, που χαρακτηρίζεται από διάσπαση της συνοχής ανάμεσα στην αντίληψη, τη διάθεση, τη σκέψη, τη συμπεριφορά και την επαφή με την πραγματικότητα. Κατά συνέπεια αυτών εμφανίζονται παραληρητικές ιδέες, ψευδαισθήσεις, αρνητικά συμπτώματα, αποδιοργάνωση της σκέψης, της ομιλίας και της συμπεριφοράς.

ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Υπάρχουν πολλές αναφορές συμπτωμάτων από την αρχαιότητα που μοιάζουν με αυτά της σχιζοφρένειας με πρώτη αναφερθείσα εκείνη που

περιγράφηκε από τον Αρεταίο τον Καππαδόκη τον 2^ο αιώνα μ.Χ. Ωστόσο ο Emil Craepelin το 1893 πρότεινε το διαχωρισμό ανάμεσα στις οργανικές ψυχώσεις και τις λειτουργικές ψυχώσεις για τις οποίες εισήγαγε τους όρους Dementia praecox και Μανιοκαταθλιπτική ψύχωση [1].

Το 1911 ο Eugene Bleuer εισήγαγε τον όρο σχιζοφρένεια. Αναφέρθηκε σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή συμπτώματα περιγράφοντας τα τέσσερα Α της συμπτωματολογίας: Αυτισμό, Αμφιθυμία, Απροσφορότητα συναισθήματος-σκέψης και Ασυναρτησία ή χάλαση συνειρμών [2].

Το 1930 ο Kurt Schneider όρισε τα κριτήρια 1^{ου} και 2^{ου} βαθμού της σχιζοφρένειας [3]. Τη δεκαετία του 1950 ανακαλύφθηκε το πρώτο δραστικό αντιψυχωσικό φάρμακο, η χλωροπρομαζίνη που αποτέλεσε και την αφετηρία της διερεύνησης της παθοφυσιολογίας και των θεραπευτικών προσεγγίσεων αυτής της ασθένειας.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η επίπτωση της νόσου είναι 5-20/100 000 άτομα κατά έτος ενώ ο κίνδυνος νόσησης κατά τη διάρκεια της ζωής του ατόμου είναι 0.90%, ίδιος σε άντρες και γυναίκες [4]. Η συχνότερη ηλικία έναρξης των

συμπτωμάτων είναι τα 15-25 χρόνια για τους άντρες κι τα 25-35 για τις γυναίκες [5].

ΜΟΡΦΕΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ

Παρανοϊκός Τύπος

Πρόκειται για έναν τύπο σχιζοφρένειας στον οποίο πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια:

A. Έντονη ενασχόληση με μία ή περισσότερες παραληρητικές ιδέες ή συχνές ακουστικές ψευδαισθήσεις.

B. Δεν προεξάρχει κανένα από τα παρακάτω: αποδιοργανωμένος λόγος, αποδιοργανωμένη ή κατατονική συμπεριφορά ή επίπεδο ή απρόσφορο συναίσθημα.

Η λειτουργικότητα του παρανοϊκού σχιζοφρενικού συνήθως εμφανίζει μέτρια έκπτωση, καθώς οι παρανοϊκοί σχιζοφρενικοί μπορεί να λειτουργούν ικανοποιητικά σε κοινωνικές / επαγγελματικές καταστάσεις, που δεν διεγείρουν τους παρανοϊκούς τους φόβους. Έτσι, μπορεί να είναι παντρεμένοι, να έχουν παιδιά και να εργάζονται. Η έναρξη αυτού του τύπου τείνει να συμβαίνει αργότερα στη ζωή απ' ότι των άλλων τύπων και τα χαρακτηριστικά του γίνονται πιο σταθερά με το πέρασμα του χρόνου.

Οι παραληρητικές ιδέες είναι τυπικά δίωξης ή μεγαλείου, αν και παραληρητικές ιδέες με άλλα θέματα, (π.χ. ζήλεια, θρησκεία), σωματοποίηση, μπορεί να εμφανισθούν. Οι παραληρητικές ιδέες μπορεί να είναι πολλαπλές, αλλά συνήθως οργανώνονται γύρω από ένα θέμα. Οι παραληρητικές ιδέες δίωξης μπορεί να προδιαθέσουν το άτομο για αυτοκτονία και ο συνδυασμός παραληρητικών ιδεών δίωξης και μεγαλείου μαζί με θυμό μπορεί να προδιαθέσουν για βία.

Αποδιοργανωμένος Τύπος

Πρόκειται για έναν τύπο σχιζοφρένειας στον οποίο πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια:

A. Προεξάρχουν όλα τα παρακάτω:

- (1) αποδιοργανωμένος λόγος
- (2) αποδιοργανωμένη συμπεριφορά
- (3) επίπεδο ή απρόσφορο συναίσθημα

B. Δεν πληρούνται τα κριτήρια Κατατονικού Τύπου.

Πρόκειται για τον τύπο της Σχιζοφρένειας που παλιότερα ονομάζονταν *ήβηφρενικός*. Την αποδιοργανωμένη συμπεριφορά και τον αποδιοργανωμένο λόγο μπορεί να συνοδεύσουν παράξενη συμπεριφορά και απρόσφορο γέλιο. Λείπουν οι συστηματοποιημένες παραληρητικές ιδέες, μπορεί όμως να υπάρχουν διασπασμένες παραληρητικές ιδέες ή

ψευδαισθήσεις χωρίς οργανωμένο περιεχόμενο. Παρατηρούνται
μανιερισμοί (στερεότυπες κινήσεις), υποχονδριακά ενοχλήματα
παραληρητικού επιπέδου και υπερβολική κοινωνική απόσυρση. Η
κοινωνική έκπτωση είναι μεγάλη. Συνήθως υπάρχει προνοσηρή
διαταραχή της προσωπικότητας, πρώιμη και ύπουλη έναρξη και χρόνια
πορεία χωρίς σημαντική ύφεση.

Κατατονικός Τύπος

Πρόκειται για έναν τύπο σχιζοφρένειας στην κλινική εικόνα του οποίου
κυριαρχούν δύο τουλάχιστον από τα παρακάτω:

- (1) κινητική ακινησία όπως γίνεται φανερή με καταληψία
(συμπεριλαμβανομένης και της κηρώδους ευκαμψίας) ή με εμβροντησία
(stupor)
- (2) υπερβολική κινητική δραστηριότητα (που είναι εμφανώς άσκοπη και
δεν επηρεάζεται από εξωτερικά ερεθίσματα)
- (3) ακραίος αρνητισμός (προβολή αντίστασης σε κάθε εντολή χωρίς
εμφανές κίνητρο ή διατήρηση δύσκαμπτης στάσης σε κάθε προσπάθεια
μετακίνησης) ή αλαλία.
- (4) ιδιορρυθμίες των εκούσιων κινήσεων όπως γίνονται φανερές από
στάσεις του σώματος (εκούσια λαμβανόμενες απρόσφορες ή αλλόκοτες

στάσεις), στερεότυπες κινήσεις, έκδηλους μανιερισμούς, ή έκδηλους μορφασμούς

(5) ηχολαλία ή ηχοπραξία

Κατά τη διάρκεια του κατατονικού stupor ή της κατατονικής διέγερσης το άτομο χρειάζεται προσεκτική παρακολούθηση για να μη βλάψει τον εαυτό του ή τους άλλους και μπορεί να χρειασθεί ιατρική φροντίδα λόγω μη λήψης τροφής, εξάντλησης, υπερπυρεξίας, αυτοτραυματισμού κτλ. Η μορφή αυτή της σχιζοφρένειας αν και συχνή πριν μερικές δεκαετίες, είναι πια σπάνια. Για να διαγνωσθεί αυτός ο τύπος, θα πρέπει κατ' αρχήν να πληροί όλα τα κριτήρια της σχιζοφρένειας και επίσης να μην υπάρχει άλλη αιτιολογία για την κατατονία όπως κάποια ουσία (π.χ. νευροληπτικά), κάποια συστηματική πάθηση ή κάποιο μανιακό ή καταθλιπτικό επεισόδιο.

Αδιαφοροποίητος τύπος

Τύπος σχιζοφρένειας στον οποίο υπάρχουν συμπτώματα που πληρούν το κριτήριο Α αλλά δεν πληρούνται τα κριτήρια του παρανοϊκού, αποδιοργανωμένου, ή κατατονικού τύπου.

Υπολειμματικός Τύπος

Ο τύπος αυτός αναφέρεται στις περιπτώσεις που έχει υπάρξει τουλάχιστον ένα επεισόδιο σχιζοφρένειας, αλλά στην τωρινή κλινική

εικόνα δεν υπάρχουν έντονα ψυχωτικά συμπτώματα, ενώ υπάρχουν αρνητικά συμπτώματα ή εξασθενημένα θετικά.

Τα διαγνωστικά κριτήρια του Υπολειμματικού Τύπου είναι:

A. Απουσιάζουν προεξάρχουσες παραληρητικές ιδέες, ψευδαισθήσεις, αποδιοργανωμένος λόγος και έντονα αποδιοργανωμένη ή κατατονική συμπεριφορά.

B. Υπάρχουν σημεία που δείχνουν ότι η διαταραχή συνεχίζεται, όπως φαίνεται από την παρουσία αρνητικών συμπτωμάτων ή δύο ή περισσότερων συμπτωμάτων από αυτά που αναφέρονται στο κριτήριο A για τη σχιζοφρένεια, που είναι παρόντα με εξασθενημένη μορφή (π.χ. παράξενες πεποιθήσεις, ασυνήθιστες αντιληπτικές εμπειρίες).

Όπως φαίνεται, λοιπόν, από τα κριτήρια, ο τύπος αυτός αναφέρεται στις περιπτώσεις που έχει υπάρξει τουλάχιστον ένα επεισόδιο σχιζοφρένειας, αλλά στην τωρινή κλινική εικόνα δεν υπάρχουν έντονα ψυχωτικά συμπτώματα, ενώ υπάρχουν αρνητικά συμπτώματα ή εξασθενημένα θετικά.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα κλινικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας εγείρουν τρία σημαντικά θέματα:

Πρώτον κανένα σύμπτωμα δεν είναι παθογνωμονικό, μπορούμε να το συναντήσουμε και σε άλλα ψυχιατρικά και νευρολογικά νοσήματα.

Δεύτερον πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το μορφωτικό επίπεδο, οι νοητικές ικανότητες και η πολιτισμική ομάδα στην οποία ανήκει ο ασθενής. Τρίτον τα συμπτώματα μπορεί να αλλάζουν με την πάροδο του χρόνου. Για παράδειγμα εκδηλώσεις σημαντικής συναισθηματικής διαταραχής μπορεί να εμφανίζονται και να υποχωρούν στην πορεία της σχιζοφρένειας.

Σύμφωνα με θεωρητικές απόψεις πριν από την πρόδρομη φάση της νόσου υπάρχουν προνοσηρά συμπτώματα. Τα άτομα είναι ήσυχα, παθητικά, εσωστρεφή, έχουν λίγους φίλους και στην εφηβεία συνήθως αποφεύγουν κάθε κοινωνική δραστηριότητα.

Τα κλασσικά συμπτώματα περιλαμβάνουν τα τέσσερα Α του Bleuer: Αυτισμό, Αμφιθυμία, Απροσφορότητα συναισθήματος-σκέψης και Ασυναρτησία ή χάλαση συνειρμών. Οι διαταραχές των νοητικών λειτουργιών διακρίνονται σε:

Διαταραχές αντίληψης. Οι σχιζοφρενείς μπορεί να έχουν ψευδαισθητικές εμπειρίες και ως προς τις πέντε αισθήσεις αλλά πιο συχνές είναι οι ακουστικές. Αυτές οι φωνές είναι συχνά απειλητικού, προσβλητικού, υβριστικού ή ενοχοποιητικού περιεχομένου. Επίσης δύο ή περισσότερες φωνές μπορεί να συνομιλούν μεταξύ τους, να σχολιάζουν ή και να προτρέπουν τον ασθενή σε κάτι.

Συχνές είναι και οι οπτικές ψευδαισθήσεις, ενώ οι υπόλοιπες είναι σπάνιες. Οι τελευταίες όταν εμφανίζονται πρέπει να εξετάζεται η πιθανότητα ύπαρξης υποκείμενης παθολογικής ή νευρολογικής διαταραχής.

Επιπλέον στη σχιζοφρένεια παρατηρούνται κιναισθητικές ψευδαισθήσεις που αποτελούν εξωπραγματικές αισθήσεις αλλαγής των οργάνων του σώματος.

Οι παραισθήσεις διαφέρουν από τις ψευδαισθήσεις στο ότι οι πρώτες αφορούν παραποίηση πραγματικών ερεθισμάτων, ενώ οι δεύτερες δεν βασίζονται σε υπαρκτές εικόνες ή αισθήσεις.

Διαταραχές σκέψης. Οι διαταραχές σκέψης ταξινομούνται σε:

Διαταραχές του περιεχομένου της σκέψης. Οι διαταραχές αυτές αντανακλούν τις πεποιθήσεις, τις ιδέες και τις ερμηνείες των

ερεθισμάτων από τον ασθενή. Εδώ εντάσσονται οι παραληρητικές ιδέες οι οποίες εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία περιεχομένου, όπως αναφοράς, καταδίωξης, μεγαλομανίας, θρησκευτικές, υποχονδριακές, ερωτομανιακές, ζηλοτυπικές. Ο όρος «απώλεια των ορίων του εγώ», περιγράφει την απουσία της αίσθησης του σώματος, του νου και της επίδρασης του ασθενούς, σε σχέση με αυτά των έμψυχων ή άψυχων όντων στο περιβάλλον του. Για παράδειγμα ο ασθενής μπορεί να πιστεύει ότι οι άλλοι γύρω του (π.χ: τηλεόραση) αναφέρονται σε αυτόν-ιδέες αναφοράς.

Οι διαταραχές της δομής της σκέψης. Οι διαταραχές αυτές ελέγχονται από τον προφορικό και γραπτό λόγο των σχιζοφρενών. Οι διαταραχές αυτές περιλαμβάνουν την χάλαση των συνειρμικών δεσμών (έλλειψη συνεκτικότητας και αλληλουχίας), που εκφράζεται με ασάφεια και αοριστία του λόγου, τους νεολογισμούς, την ασυναρτησία, τον εκτροχιασμό, την ηχολαλία, την υπερπεριεκτικότητα και την ομιλία-σαλάτα και τέλος την βωβότητα.

Διαταραχές στη ροή της σκέψης. Αυτές περιλαμβάνουν τη φυγή των ιδεών, την ανακοπή της σκέψης, τη διαταραχή της προσοχής, την μειωμένη ικανότητα αφαιρετικής σκέψης, την εμμονή και την περιφερικότητα της σκέψης.

Διαταραχές διάθεσης. Αυτές διακρίνονται σε αποδιοργανωτικές όπως το απρόσφορο συναίσθημα, η αμφιθυμία, η ευερεθιστότητα και σε εκείνες που χαρακτηρίζονται από έκπτωση συναισθηματικής ανταπόκρισης όπως είναι το αμβλύ και το επίπεδο συναίσθημα. Συχνή είναι επίσης η μετακριτική κατάθλιψη.

Διαταραχές της βούλησης και της κινητικότητας. Περιλαμβάνουν την αμφιβουλησία και την αβουλία. Η κατατονία, μια κατάσταση όπου ο ασθενής παραμένει ακίνητος και δεν αντιδρά σε εξωτερικά ερεθίσματα είναι σπάνια σήμερα.

ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η αιτιολογία της σχιζοφρένειας είναι άγνωστη. Κυριότεροι παράγοντες κινδύνου καθώς και οι βασικές παθοφυσιολογικές θεωρίες επιγραμματικά είναι:

A) γενετικοί παράγοντες [μελέτες διδύμων, γονίδια του ενζύμου κατεχόλ-Ο-μέθυλο τρανσφεράση (COMT), neuregulin1, dysbindin1] [6-10].

B) περιβαλλοντικοί παράγοντες (επιπλοκές κύησης-τοκετού, ασιτία, λοιμώξεις, μετανάστευση, κοινωνικό status) [11-15].

Γ) ψυχοκινητικές θεωρίες,

Δ) νευροεκφυλιστικές, και νευροαναπτυξιακές θεωρίες (μείωση του φλοιού, μεγέθυνση των κοιλιών, μείωση του ιπποκάμπου, ασυμμετρία των ημισφαιρίων κ.α.) [16-18].

Ε) Σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της νόσου διαδραματίζουν διάφοροι νευροδιαβιβαστές όπως είναι το γλουταμικό οξύ, η σεροτονίνη, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), η ακετυλοχολίνη και η ντοπαμίνη.

ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Το 10-20% των ασθενών έχει μικρή έκπτωση της λειτουργικότητας ή και πλήρη ανάρρωση, το 20-30% έχει μέτρια έκπτωση λειτουργικότητας που επιτρέπει μια σχετικά ικανοποιητική ζωή και το 40-50% με πολλά επιδεινούμενα επεισόδια έχει βαριά κι αποδιοργανωμένη εξέλιξη. Τέλος το 10% των ασθενών αυτοκτονεί.

Δυσμενείς παράγοντες θεωρούνται το άρρεν φύλο, η αγαμία, η κοινωνική απομόνωση, η ύπουλη πρώιμη έναρξη χωρίς εκλυτικό αίτιο, ο αποδιοργανωμένος τύπος, το επίπεδο ή αμβλύ συναίσθημα, η χαμηλή νοημοσύνη και κοινωνική τάξη, η προνοσηρή προσωπικότητα και το θετικό οικογενειακό ιστορικό [18,19].

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Τα επίσημα διαγνωστικά κριτήρια του DSM-4 για την σχιζοφρένεια είναι τα κάτωθι:

A) *Χαρακτηριστικά συμπτώματα:* Δύο (ή περισσότερα) από τα ακόλουθα, το καθένα από τα οποία είναι παρόν για σημαντικό τμήμα του χρόνου κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ενός μηνός (ή λιγότερο αν αντιμετωπιστεί επιτυχώς):

(1) παραληρητικές ιδέες

(2) ψευδαισθήσεις

(3) αποδιοργανωμένος λόγος (π.χ. συχνός εκτροχιασμός ή ασυναρτησία)

(4) αρνητικά συμπτώματα π.χ. συναισθηματική επιπέδωση, αλογία ή αβουλησία

Σημείωση: Απαιτείται μόνο ένα σύμπτωμα του κριτηρίου A αν οι παραληρητικές ιδέες είναι αλλόκοτες ή οι ψευδαισθήσεις αποτελούνται από μία φωνή που σχολιάζει αδιάκοπα τη συμπεριφορά ή τις σκέψεις του ατόμου ή από δύο ή περισσότερες φωνές που συνδιαλέγονται μεταξύ τους.

B) Κοινωνική /Επαγγελματική δυσλειτουργία: Για ένα σημαντικό τμήμα του χρόνου από τη στιγμή της έναρξης της διαταραχής, μία ή περισσότερες μείζονες περιοχές της λειτουργικότητας, όπως η εργασία, οι διαπροσωπικές σχέσεις ή η αυτομέριμνα είναι καταφανώς κάτω από το επίπεδο που είχε επιτευχθεί πριν την έναρξη (ή όταν η έναρξη τοποθετείται στην παιδική ηλικία ή την εφηβεία, η αποτυχία να επιτευχθεί το αναμενόμενο επίπεδο διαπροσωπικών, σχολικών ή επαγγελματικών επιτευγμάτων).

Γ) Διάρκεια: Συνεχή σημεία της διαταραχής επιμένουν για τουλάχιστον 6 μήνες. Αυτή η περίοδος των 6 μηνών πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα μήνα συμπτωμάτων (ή λιγότερο αν αντιμετωπιστούν επιτυχώς), τα οποία πληρούν το Κριτήριο Α (δηλ. ενεργός φάση των συμπτωμάτων) και μπορεί να περιλαμβάνει περιόδους με πρόδρομα ή υπολειμματικά συμπτώματα. Κατά τη διάρκεια αυτών των περιόδων, της πρόδρομης ή της υπολειμματικής, τα σημεία της διαταραχής μπορούν να εκδηλώνονται μόνον με αρνητικά συμπτώματα ή είναι παρόντα σε πιο εξασθενημένη μορφή δύο ή περισσότερα συμπτώματα που συγκαταλέγονται στο Κριτήριο Α(π.χ. παράδοξες πεποιθήσεις, ασυνήθη αισθητηριακά βιώματα).

Δ) *Αποκλεισμός της Σχιζοσυναισθηματικής Διαταραχής και Διαταραχής της Διάθεσης*: Η Σχιζοσυναισθηματική Διαταραχή και η Διαταραχή της Διάθεσης Με Ψυχωτικά Στοιχεία έχουν αποκλειστεί επειδή είτε (1) δεν υπήρχε παρουσία Μείζονος Καταθλιπτικού ή Μικτού Επεισοδίου ταυτόχρονα με την ενεργό φάση των συμπτωμάτων, ή (2) αν υπήρχε παρουσία επεισοδίων της διάθεσης κατά τη διάρκεια της ενεργού φάσης των συμπτωμάτων, η συνολική τους διάρκεια ήταν βραχεία σε σχέση με τη διάρκεια της ενεργού και της υπολειμματικής περιόδου.

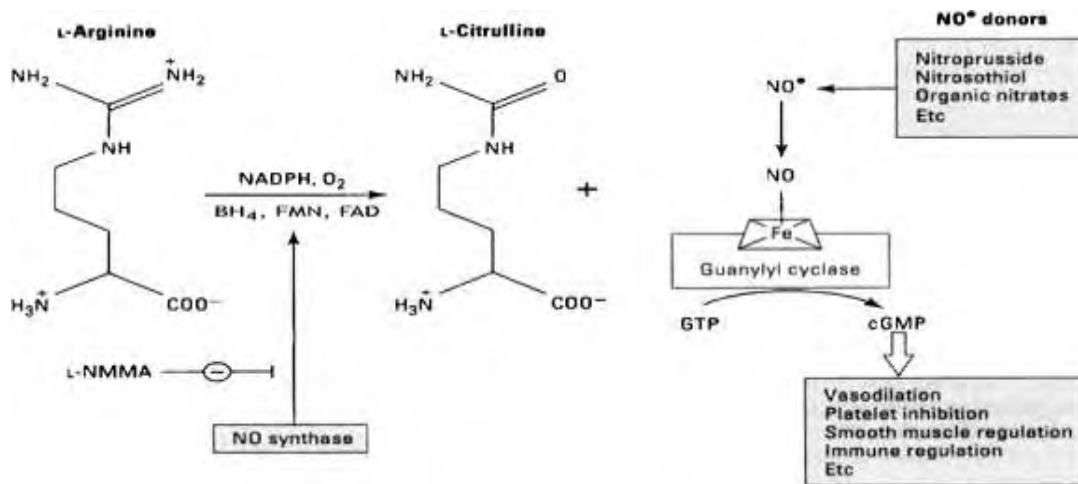
Ε) *Αποκλεισμός Ουσιών/συστηματικής διαταραχής*: Η διαταραχή δεν οφείλεται στις άμεσες φυσιολογικές δράσεις μιας ουσίας (π.χ. ουσία κατάχρησης, φάρμακα) ή *συστηματικής διαταραχής*.

ΣΤ) *Σχέση με Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή*: Αν υπάρχει ιστορικό Αυτιστικής Διαταραχής ή άλλης Διάχυτης Αναπτυξιακής Διαταραχής, η επιπρόσθετη διάγνωση της Σχιζοφρένειας τίθεται μόνον αν υπάρχουν επίσης προεξάρχουσες παραληρητικές ιδέες ή ψευδαισθήσεις για τουλάχιστον ένα μήνα (ή λιγότερο αν αντιμετωπιστούν επιτυχώς).

ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Το αέριο μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, NO) είναι ένας σημαντικός ενδοκυττάριος αγγελιοφόρος του εγκεφάλου. Το NO είναι μια ελεύθερη ρίζα, με βραχεία ημίσεια ζωή που διαχέεται διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Σχηματίζεται από τη μετατροπή της L-αργινίνης σε L-κιτρουλίνη, με την απελευθέρωση NO [20,21] παρουσία NADPH και O₂. Το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του NO είναι η συνθετάση του NO (NOS). Η σύνθεση του NO είναι πολύπλοκη και εξαρτάται από την διαθεσιμότητα των προσθετικών ομάδων και των συνενζύμων όπως το FAD, το FMN η τετραυδροβιοπτερίνη και η αίμη.

Έχουν περιγραφεί τρεις ισομορφές του ενζύμου NOS: η νευρωνική NOS (nNOS, NOS τύπου I), η επαγωγίμη NOS (iNOS, τύπου II) και η ενδοθηλιακή NOS (eNOS). Η nNOS και η eNOS [22,23] εξαρτώνται από την παρουσία ιόντων ασβεστίου και καλμοδουλίνης ενώ η iNOS θεωρείται ασβέστιο-ανεξάρτητη. Λειτουργικά, το NO ενεργεί σαν ενδοκυττάριος αγγελιοφόρος, και διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στην έκλυση διαφόρων νευροδιαβιβαστών όπως είναι η ακετυλοχολίνη, το γλουταμικό οξύ, η ντοπαμίνη, η σεροτονίνη κτλ [24].



Εικόνα 1. Σύνθεση και δράση, μέσω του δευτέρου αγγελιοφόρου cGMP του NO.

Στον εγκέφαλο το NO ενεργοποιεί τον υποδοχέα του-στόχο τη γουανυλική κυκλάση (guanylate cyclase, GC) με αποτέλεσμα την αυξημένη σύνθεση του δευτέρου αγγελιοφόρου μονοφωσφορική κυκλική γουανοσίνη (cyclic-guanosine monophosphate-cGMP), που ενεργοποιεί cGMP-εξαρτώμενες κινάσες σε κύτταρα-στόχους [25,26].

Το NO ενέχεται στην συναπτική πλαστικότητα (μακροχρόνια ενδυνάμωση-LTP), στη μάθηση και μνήμη, στο άγχος, στον εθισμό κ.α.[28]. Η νευρωνική NOS ενεργοποιείται από αγωνιστές των NMDA υποδοχέων και αυξάνει την παραγωγή του NO. Συνεπώς, το επίπεδο του παραγόμενου NO αντανakλά την δραστηριότητα της γλουταμινεργικής νευροδιαβίβασης [27,29].

Η ενδοθηλιακή NOS έχει αγγειοδιασταλτική, αντιθρομβωτική και αντιπολλαπλασιαστική δράση [29,30]. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι αύξηση της παραγωγής της eNOS προστατεύει από την εγκεφαλική ισχαιμία μέσω αγγειοδιαστολής καθώς και μέσω της αναστολής της προσκόλλησης λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων [31]. Σε αυτό το πλαίσιο εικάζεται ότι μεταβολές της εγκεφαλικής αιμάτωσης μπορεί να σχετίζεται με την σχιζοφρένεια [32].

Η iNOS παίζει κύριο ρόλο στις φλεγμονώδεις διαδικασίες. Στον εγκέφαλο, η iNOS εκφράζεται κυρίως στη μικρογλοία, και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το NO που παράγεται από την iNOS εμπλέκεται σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, όπως το σηψαιμικό σοκ, η εγκεφαλική ισχαιμία, η σκλήρυνση κατά πλάκας και η νόσος του Alzheimer [33]. Και οι τρεις ισομορφές NOS αναστέλλονται από ένα ενδογενή παράγοντα, την ασύμμετρη διμεθύλ-αργινίνη (ADMA). Αυξημένα επίπεδα ADMA ορού βρέθηκαν σε σχιζοφρενείς ασθενείς [34].

ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΚΑΙ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ

Γενετική

Πολυμορφισμοί του γονιδίου NOS 1 (nNOS) έχει τεκμηριωθεί ότι συνδέονται με αυξημένη ευαισθησία για εκδήλωση σχιζοφρένειας [35].

Πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι ο NOS1 γονότυπος επηρεάζει το δείκτη

νοημοσύνης και τη λειτουργική μνήμη. Σε μελέτες, οι φορείς του γονιδίου SNP rs6490I2I είχαν κακές επιδόσεις σε τεστ μάθησης σε σύγκριση με αυτούς που δεν ήταν φορείς του συγκεκριμένου γονιδίου. Άλλα γονίδια που συνδέονται με το NO και την εκδήλωση σχιζοφρένειας είναι τα NOS 1AP (CAPON) Gene [36,37] και το NOS 3(eNOS) gene [38].

Ιστοχημικά και βιοχημικά ευρήματα

Πληθώρα ιστοχημικών και βιοχημικών δεδομένων αποδεικνύει επίσης την εμπλοκή του NO στη σχιζοφρένεια [39]. Έχει παρατηρηθεί ανώμαλη κατανομή νιτρεργικών νευρώνων στον μετωπιαίο και τον κροταφικό λοβό σχιζοφρενών ασθενών. Ιστοχημικά ευρήματα κατέδειξαν ότι οι σχιζοφρενείς εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα NADPH διαφοράσης, ένα δείκτη NOS ενεργ στην φλοιώδη φαιά ουσία αλλά υψηλότερα επίπεδα του ίδιου ενζύμου στην λευκή ουσία σε σύγκριση με αυτά των μαρτύρων [40].

Βιοχημικές μελέτες που αξιολογούσαν την έκφραση των nNOS νευρώνων στο φλοιό των σχιζοφρενών ασθενών είχαν αντιφατικά αποτελέσματα [41]. Στον παρακοιλιακό και στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου, αλλά όχι σε άλλες υποθαλαμικές περιοχές, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έκφραση nNOS νευρώνων σε σχιζοφρενείς ασθενείς [42,43]. Αντίθετα, μια άλλη μελέτη ανέδειξε

αυξημένη περιεκτικότητα σε νιτρώδη στον κερκοφόρο πυρήνα των ασθενών που πάσχουν από σχιζοφρένεια [44], ενώ αντίθετα στο κέλυφος του ραβδωτού σώματος τα επίπεδα NADPH διαφοράσης ήταν χαμηλά . Αντιφατικά ήταν και τα αποτελέσματα μετρήσεων αιματικών επιπέδων μεταβολιτών του NO (νιτρώδη και νιτρικά άλατα) που πραγματοποιήθηκαν σε σχιζοφρενείς ασθενείς. Βρέθηκαν υψηλές όσο και χαμηλές συγκέντρωσεις NO μεταβολιτών στον ορό ασθενών[45,46,47]. Πρόσφατα αναδείχθηκε ότι τα χαμηλά επίπεδα NO μεταβολιτών στον ορό μπορεί να σχετίζονται με την παθοφυσιολογία των αρνητικών συμπτώματων της σχιζοφρένειας [48].

Μειωμένα επίπεδα μεταβολιτών του NO βρέθηκαν επίσης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) σχιζοφρενών ασθενών. Γεγονός που δεν μπορεί να αποδοθεί σε αντιψυχωσικά φάρμακα αφού οι συγκεκριμένοι ασθενείς δεν λάμβαναν θεραπεία [49]. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση ζωικών προτύπων σχιζοφρένειας τεκμηριώθηκε ότι οι δότες του NO αλλά και οι αναστολείς της NOS υποστρέφουν τα ψυχωσεομιμητικά συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων και των γνωσιακών ελλειμμάτων που προκλήθηκαν από τη χορήγηση ανταγωνιστών των NMDA υποδοχέων [50,51,52,53].

Συμπερασματικά μπορεί να ειπωθεί ότι και τα υψηλά αλλά και τα χαμηλά επίπεδα του NO συνδέονται με τη παθολογία της σχιζοφρένειας.

ΝΤΟΠΑΜΙΜΗ ΚΑΙ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ

Η ντοπαμινεργική δυσλειτουργία έχει προταθεί από δεκαετίες στη παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας. Η σχιζοφρένεια είναι μια νόσος που χαρακτηρίζεται από απώλεια ισορροπίας μεταξύ του μεσομεταιχμιακού και του μεσοφλοιώδους ντοπαμινεργικού συστήματος. Στο μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα παρατηρείται αυξημένη έκλυση ντοπαμίνης που έχει σαν αποτέλεσμα την υπερδιέγερση των D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων και την εμφάνιση των θετικών συμπτωμάτων αυτής της παθολογίας. Αντίθετα, στο μεσοφλοιώδες σύστημα φαίνεται ότι έχουμε μειωμένη έκλυση ντοπαμίνης η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την υπολειτουργικότητα των D1 ντοπαμινεργικών υποδοχέων και την εμφάνιση των αρνητικών συμπτωμάτων και γνωσιακών ελλειμμάτων που παρατηρούνται στη σχιζοφρένεια [54].

Πρόσφατα αποτελέσματα από προκλινικές και κλινικές έρευνες ανέδειξαν ότι τόσο η υπολειτουργικότητα όσο και η υπερδραστηριότητα της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης συνδέεται με την εμφάνιση γνωσιακών ελλειμμάτων [55,56,57] .

ΝΤΟΠΑΜΙΝΗ ΚΑΙ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Υπάρχουν πολλές πειραματικές ενδείξεις ότι το NO είναι λειτουργικά συνδεδεμένο με την ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση. Τόσο ανασταλτικές όσο και ευωδοτικές δράσεις του NO στην απελευθέρωση της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα και τον προμετωπιαίο φλοιό έχουν αναφερθεί υποδεικνύοντας ότι το NO είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας [58,59]. Επιπλέον, το NO φαίνεται να εμπλέκεται σε διαταραχές προσοχής που προάγονται από την υπερδραστηριότητα του ντοπαμινεργικού συστήματος [60,61].

Ωστόσο, αν και κατά πόσο το NO συνδέεται με διαταραχές της μάθησης και της μνήμης οφειλόμενες σε δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος παραμένει άγνωστο μέχρι σήμερα.

ΜΝΗΜΗ-ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΗ ΜΝΗΜΗ

Μάθηση είναι η απόκτηση γνώσεων από το περιβάλλον και τροποποίηση της συμπεριφοράς ανάλογα με αυτές. Μνήμη είναι η συγκράτηση ή αποθήκευση αυτών των γνώσεων και η δυνατότητα ανάκλησής τους. Υπάρχουν διάφοροι τύποι μνήμης. Η βραχυχρόνια μνήμη είναι προσωρινή, μικρής διάρκειας και υποστηρίζει την καθημερινή δραστηριότητα του ατόμου. Η αισθητηριακή μνήμη (sensory memory) είναι αυτή που προσλαμβάνει τα δεδομένα από το περιβάλλον, είναι

βραχείας διάρκειας και δεν είναι επεξεργασμένη. Ένα είδος μνήμης που μοιάζει με την αισθητηριακή είναι η αντιληπτική μνήμη . Αντίθετα η μακροχρόνια μνήμη αφορά γεγονότα μηνών και ετών του παρελθόντος και χωρίζεται σε έκδηλη (συνειδητή) και άδηλη (αυτόματο-αντανακλαστικού χαρακτήρα, συνειρμική και μη συνειρμική). Η έκδηλη μνήμη χωρίζεται στην επεισοδιακή ή αυτοβιογραφική μνήμη που συσχετίζεται και επηρεάζεται από τις πληροφορίες του περιβάλλοντος και την σημασιολογική μνήμη όπου αποθηκεύονται πληροφορίες που σχετίζονται με τεκμηριωμένη, απόλυτη γνώση.

Ένας άλλος τύπος μνήμης είναι η λειτουργική μνήμη (working memory) που περιλαμβάνει τα αισθητηριακά δεδομένα με την ερμηνεία τους (επεξεργασμένη μνήμη) και είναι διάρκειας δευτερολέπτων.

Κομβικό ρόλο στις διαδικασίες της μνήμης έχει ο ιππόκαμπος ενώ μόνιμη αποθήκευση και επεξεργασία της πληροφορίας συντελείται στον φλοιό (κάτω κροταφικός φλοιός, ενδορρινικός φλοιός).

Η αναγνωριστική μνήμη είναι μια ιδιαίτερη μορφή επεισοδιακής μνήμης. Επηρεάζεται από νευροεκφυλιστικές παθήσεις και εγκεφαλικές βλάβες. Σχετίζεται με την αναγνώριση ερεθισμάτων που έχουν εμφανισθεί και απομνημονευθεί κατά το παρελθόν. Περιλαμβάνει τις διαδικασίες της επανασυλλογής που σχετίζονται με την ανάκληση λεπτομερειών που

αφορούν το προηγούμενο βίωμα και εξοικείωσης που αναφέρεται στη συνειδητή γνώση και οικειότητα ως προς αυτο το ερέθισμα.

ΑΠΟΜΟΡΦΙΝΗ

Η απομορφίνη είναι ένας μεικτός αγωνιστής των D1/D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων [62] που επιδρά στις γνωσιακές λειτουργίες. Μια σειρά μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους και σε πειραματόζωα καταδεικνύουν ότι χορήγηση απομορφίνης δύναται να βοηθήσει το σχηματισμό μνήμης [63,64,65,66] ενώ αντίθετα άλλες μελέτες ανέδειξαν ότι ασκεί βλαπτική δράση στην μνήμη [64,67,68,69,70,71,72].

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Ο σκοπός της ερευνάς μας ήταν να διερευνηθεί ο ρόλος της απομορφίνης στην αναγνωριστική μνήμη καθώς και η δυνατότητα του NO να ανταγωνιστεί τα ελλείμματα της αναγνωριστικής μνήμης που αναμένεται να προκληθούν από τη χορήγηση απομορφίνης. Είναι γνωστό ότι οι σχιζοφρενείς εμφανίζουν διαταραχή της αναγνωριστικής μνήμης [73,74] ενώ η απομορφίνη προκαλεί έκπτωση της αναγνωριστικής μνήμης και σε υγιείς ανθρώπους [75].

Αρχικά, μελετήθηκε η δόσοεξαρτώμενη επίδραση που ασκεί η απομορφίνη στην αναγνωριστική μνήμη των επίμυων. Στη συνέχεια μελετήθηκε η ικανότητα διαφόρων δοτών του NO, (μολσιδομίνη και SNP) καθώς και αναστολέων της NOS (L-NAME και 7-NI) να αναστρέψουν τα ελλείμματα στην αναγνωριστική μνήμη των επίμυων που προκαλούνται από την απομορφίνη.

Η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (ΔΑΝΑ) αποτέλεσε το τρόπο εκτίμησης της αναγνωριστικής μνήμης των πειραματόζωων. Μέσω αυτής της συμπεριφορικής διαδικασίας μελετάται η ικανότητα των επίμυων να αναγνωρίσουν μια σειρά από νέα ερεθίσματα σε οικείο περιβάλλον. Η δοκιμασία αυτή βασίζεται στην αυθόρμητη επιμονή εξερεύνησης αντικειμένων που είναι χαρακτηριστικό των πειραματόζωων. Ο χρόνος που δαπανάται για τη διερεύνηση ενός νέου

αντικειμένου σε σύγκριση με το χρόνο ενασχόλησης με ένα ήδη γνώριμο αντικείμενο αποτελεί μέτρο της αναγνωριστικής μνήμης. Στην παρούσα μελέτη η δοκιμή αναγνώρισης αντικειμένου διεξήχθη 3 ώρες μετά την δοκιμασία εκπαίδευσης και αποτελεί μέθοδο εκτίμησης της βραχυχρόνιας αναγνωριστικής μνήμης [76].

II ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μεθοδολογία

Πειραματόζωα

Χρησιμοποιήθηκαν άρρενες επίμυες του γένους Wistar (Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα, Ελλάδα) που ζύγιζαν 250-300g.

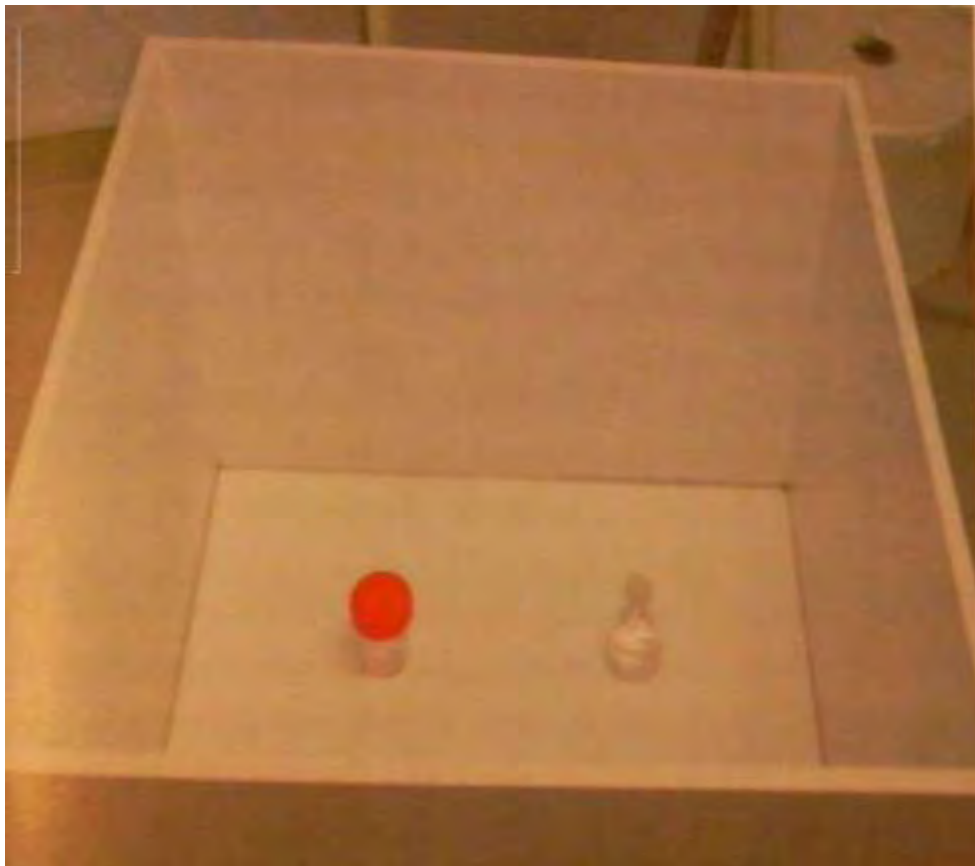
Οι επίμυες διέμεναν σε κλωβούς Makrolon (47,5 cm μήκος x 20,5 cm ύψος x 27 cm πλάτος), τρία ζώα ανά κλωβό, σε σταθερό περιβάλλον (21 ± 1 ° C και 50-55% υγρασία). Ο φωτισμός ήταν κυκλικός, δηλαδή 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Τα φώτα άναβαν στις 07.00. Τα πειραματόζωα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό.

Οι διαδικασίες που αφορούσαν τα ζώα και τη φροντίδα τους έγιναν σύμφωνα με τα διεθνή πρωτόκολλα και σε συμφωνία με τους εθνικούς και διεθνείς νόμους και στρατηγικές (EEC Council Directive 86/609, JL 358, 1, December 12, 1987; NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals, NIH publication no. 85-23, 1985).

Η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου (ΔΑΝΑ)

Η πειραματική διάταξη αποτελείται από ένα σκούρο ανοιχτό κουτί κατασκευασμένο από πλέξιγκλας (80 cm μήκος x 50 cm ύψος x 60 cm πλάτος), που φωτίζεται από μια λάμπα έντασης 60 W τοποθετημένη 60 cm πάνω από τη συσκευή έτσι ώστε η ένταση του φωτός να είναι ίδια σε

όλα τα σημεία της συσκευής. Τα αντικείμενα προς αναγνώριση είναι κατασκευασμένα από γυαλί, πλαστικό, ή μέταλλο, σε τρία διαφορετικά σχήματα: μεταλλικοί κύβοι, πυραμίδες από γυαλί και πλαστικοί κύλινδροι, όλα σε τριάδες. Το ύψος των αντικειμένων είναι 7 cm και με βάρος που να μην μπορούν να μετατοπισθούν από τους επίμυες.



Εικόνα 2. Πειραματική διάταξη της ΔΑΝΑ.

Η ΔΑΝΑ πραγματοποιείται σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία [51,76]. Εν συντομία, κατά τη διάρκεια της εβδομάδας πριν από τη δοκιμή, γίνονται χειρισμοί

εξοικείωσης των πειραματοζώων με τον πειραματιστή δύο φορές την ημέρα για τρεις συνεχόμενες ημέρες.

Ακολούθως οι επίμυες τοποθετούνται στην πειραματική συσκευή για να εξοικειωθούν στο χώρο για 2 λεπτά για τρεις συνεχόμενες ημέρες. Μετά την εξοικείωση αρχίζει η πειραματική δοκιμασία. Η δοκιμασία περιλαμβάνει 2 δοκιμές, διάρκειας δύο λεπτών. Την δοκιμή εκπαίδευσης και τη δοκιμή επιλογής. Κατά τη δοκιμή εκπαίδευσης (T1) δύο πανομοιότυπα δείγματα (αντικείμενα) τοποθετούνται σε δύο αντίθετες γωνίες της συσκευής 10 cm από τα τοιχώματα της. Ο επίμυς τοποθετείται στο μέσο της συσκευής και αφήνεται να εξερευνήσει το χώρο καθώς και τα δύο όμοια αντικείμενα. Μετά την ολοκλήρωση της T1 το πειραματοζώο επιστρέφει στο κλουβί του και δίδεται ένα διάλειμμα (intertrial interval, ITI) η διάρκεια του οποίου ποικίλει ανάλογα με το πειραματικό πρωτόκολλο. Ακολούθως πραγματοποιείται η δεύτερη δοκιμή, η δοκιμή επιλογής (T2) όπου το ένα από τα δύο όμοια αντικείμενα έχει αντικατασταθεί από ένα νέο. Συνεπώς, οι επίμυες καλούνται να εξερευνήσουν δύο διαφορετικά αντικείμενα σ' αυτή τη δοκιμή. Το ήδη γνωστό αντικείμενο (F) και το νέο αντικείμενο (N). Αν ο επίμυς κατά τη T2 εξερευνήσει για περισσότερο χρόνο το νέο από το ήδη γνωστό αντικείμενο αυτό αποτελεί ένδειξη καλής μνήμης.

Όλοι οι συνδυασμοί και οι θέσεις των αντικειμένων χρησιμοποιούνται με τυχαίο και ισορροπημένο τρόπο προς αποφυγή προτίμησης αντικειμένου από τους επίμυες. Για να αποφευχθεί η παρουσία οσφρητικών νύξεων, η

συσκευή και τα αντικείμενα καθαρίζονται επιμελώς με αιθανόλη 20% και στη συνέχεια σκουπίζονται με ξηρό χαρτί μετά από κάθε δοκιμή.

Εξερευνητική δραστηριότητα θεωρείται η κατεύθυνση της μύτης των επίμυων προς το αντικείμενο σε απόσταση έως 2 cm και / ή η επαφή της μύτης τους με το αντικείμενο. Γυρίζοντας γύρω από το αντικείμενο οι επίμυες ή όταν στέκονται με το σώμα τους επάνω στο αντικείμενο δεν θεωρείται εξερευνητική συμπεριφορά. Ο χρόνος που εξερευνά κάθε αντικείμενο κατά τη διάρκεια της T1 και T2 ο επίμυς καταγράφεται με ένα χρονόμετρο χειρός.

Έτσι υπολογίζουμε μια σειρά μεταβλητών: το συνολικό χρόνο εξερεύνησης των δύο όμοιων αντικειμένων κατά την T1 και τον χρόνο εξερεύνησης των δύο διαφορετικών αντικειμένων (F) και (N) κατά την T2. Η διάκριση μεταξύ του (F) και του (N) κατά τη διάρκεια της T2 εκτιμάται συγκρίνοντας το χρόνο που δαπανήθηκε για τη εξερεύνηση του οικείου αντικειμένου F με το χρόνο που δαπανήθηκε για την εξερεύνηση του νέου αντικειμένου N. Επειδή η διαφορά στο χρόνο εξερεύνησης των F και N αντικειμένων πρέπει να συνεκτιμηθεί και με το συνολικό χρόνο εξερεύνησης εισάγεται ένας δείκτης διάκρισης (D): $D = N - F/N + F$ [77]. Επιπλέον καταγράφεται η κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων η οποία εκφράζεται με το συνολικό αριθμό των βημάτων των επίμυων

κατά την T2.

Φάρμακα

Όλα τα διαλύματα παρασκευάστηκαν την ημέρα της δοκιμής και χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά (ip).

Η απομορφίνη (Sigma, St Louis, MO, USA) διαλύθηκε σε φυσιολογικό ορό (NaCl 0,9%) που περιείχε 0.1% ασκορβικό οξύ για την πρόληψη της οξειδωσης.

Οι δόσεις της απομορφίνης επιλεχθήκαν βάσει προηγούμενων μελετών στις οποίες αξιολογήθηκε η δράση αυτού του D1/D2 ντοπαμινεργικού αγωνιστή επί των γνωσιακών λειτουργιών των επίμυων [65,66,67,70,78].

Η μολσιδομίνη (Sigma Tau, Μιλάνο, Ιταλία) και το SNP (Merck KGaA, Ντάρμστατ, Γερμανία) διαλύθηκαν σε φυσιολογικό ορό. Οι δόσεις της μολσιδομίνης επιλέχθηκαν βάσει προηγούμενης μελέτης που απέδειξε την ευεργετική δράση της μολσιδομίνης επί των διαταραχών μάθησης χωρίς να προκαλεί παρενέργειες [52].

Οι δόσεις του SNP επιλεχθήκαν με βάση προηγούμενη μελέτη [79] καθώς και σε αδημοσίευτα στοιχεία μας.

Το L-NAME (Sigma, Σαιντ Λούις, ΗΠΑ) διαλύθηκε σε φυσιολογικό ορό. Οι δόσεις του L-NAME επιλεχθήκαν βάσει προηγούμενων μελετών

στις οποίες το L-NAME ήταν αποτελεσματικό έναντι των διαταραχών μάθησης χωρίς να προκαλεί παρενέργειες [51,80].

Το 7-NI (Alfa AESA GmbH, Καρλσρούη, Γερμανία), διαλύθηκε σε φυσιολογικό ορό με μια σταγόνα Tween 80. Οι δόσεις του 7-NI επιλεχθήκαν με βάση αδημοσίευτα δεδομένα μας. Τα ζώα ελέγχου (μάρτυρες) έλαβαν φυσιολογικό ορό.

Πειραματικό πρωτόκολλο

Τα πειράματα διεξήχθησαν μεταξύ 10:00 και 14:00 ώρα στο ίδιο δωμάτιο, όπου διέμεναν τα ζώα αυτά. Η συμπεριφορά των ζώων βιντεοσκοπήθηκε.

Επίδραση της χορήγησης διαφορετικών δόσεων απομορφίνης μετά την δοκιμή εκπαίδευσης στη ΔΑΝΑ.

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε πέντε πειραματικές ομάδες (10 επίμυες ανά ομάδα): οι μάρτυρες που έλαβαν φυσιολογικό ορό και οι ομάδες που έλαβαν 0.05, 0.1, 0.5 και 1.0 mg/kg αντίστοιχα δόση απομορφίνης.

Για να μελετηθεί η δράση της απομορφίνης στη μνήμη (αποθήκευση ή/και ανάκτηση) το φάρμακο χορηγήθηκε αμέσως μετά την T1. Έχει

αναφερθεί ότι η χορήγηση απομορφίνης (1.0 mg/kg) προκαλεί υπερκινητικότητα [81] και αύξηση των στερεοτυπιών [82]. Αυτές οι παρενέργειες αναστρέφεται μετά από μία ώρα από τη χορήγηση του φαρμάκου [81,82]. Επομένως, είναι πιθανό ότι αυτές οι ιδιότητες της απομορφίνης θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη σωστή εκτέλεση της δοκιμασίας μνήμης (ΔΑΝΑ) από τους επίμυες. Πειραματικά δεδομένα έχουν αποδείξει ότι οι ικανότητες αναγνωριστικής μνήμης των επίμυων εξασθενούν 6 ώρες μετά από τη δοκιμή T1 [83]. Σε μια προσπάθεια να αποφευχθεί η πιθανότητα να επηρεασθεί η μνημονική ικανότητα των επίμυων από τις επαγόμενες από τη χορήγηση απομορφίνης προαναφερθείσες παρενέργειες και έχοντας υπ' όψη τη διάρκεια των ικανοτήτων αναγνωριστικής μνήμης των επίμυων (6 ώρες) επιλέχθηκαν οι 3 ώρες σαν μεσοδιάστημα (ITI) μεταξύ των δοκιμών T1 και T2. Αυτό το ITI είναι αρκετό για να παρέλθουν οι προαναφερθείσες παρενέργειες της απομορφίνης αλλά βρίσκεται και μέσα στα χρονικά όρια διατήρησης της αναγνωριστικής μνήμης.

Σε όλα τα επόμενα πειράματα που εξετάστηκε η ικανότητα διαφόρων δοτών του NO ή αναστολέων της NOS να ανταγωνιστούν την επαγόμενη από την απομορφίνη διαταραχή στην μνήμη η δόση της απομορφίνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 1.0 mg/kg.

Επίδραση των δοτών του NO μολσιδομίνης και SNP καθώς και των αναστολέων της NOS L-NAME και 7-NI στην επαγόμενη από την απομορφίνη διαταραχή της αναγνωριστικής μνήμης στη ΔΑΝΑ.

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε διαφορετικές πειραματικές ομάδες (10 επίμυες ανά ομάδα). Έξι ομάδες έλαβαν 2.0 και 4.0 mg/kg μολσιδομίνη σε συνδυασμό με απομορφίνη και άλλες έξι ομάδες έλαβαν 0.3 και 1.0 mg/kg SNP σε συνδυασμό με απομορφίνη. Έτσι προέκυψαν οι ακόλουθες ομάδες επίμυων. Αυτές που έλαβαν: φυσιολογικό ορό και φυσιολογικό ορό, μολσιδομίνη 2.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, μολσιδομίνη 4.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, απομορφίνη 1.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, απομορφίνη 1.0 mg/kg και μολσιδομίνη 2.0 mg/kg και τέλος απομορφίνη 1.0 mg/kg και μολσιδομίνη 4.0 mg/kg.

Οι ομάδες επίμυων που τους χορηγήθηκε SNP χωρίστηκαν σε αυτές που έλαβαν: φυσιολογικό ορό και φυσιολογικό ορό, φυσιολογικό ορό και SNP 0.3 mg/kg, φυσιολογικό ορό και SNP 1.0 mg/kg, απομορφίνη 1.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, απομορφίνη 1.0 mg/ g και SNP 0.3 mg/kg και τέλος απομορφίνη 1.0 mg/kg και SNP 1.0 mg/kg. Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν αμέσως μετά τη T1 δοκιμασία και τρεις ώρες αργότερα διενεργήθηκε η δοκιμή επιλογής T2.

Ομοίως, οι επίμυες που έλαβαν αναστολείς της NOS χωρίστηκαν σε έξι ομάδες επίμυων όπου εκτιμήθηκε το αποτέλεσμα της χορήγησης 1.0 και

3.0 mg/kg L-NAME σε συνδυασμό με απομορφίνη και άλλες έξι ομάδες που μελετήθηκε η χορήγηση 1.0 και 3.0 mg/kg 7-NI σε συνδυασμό με απομορφίνη. Οι ομάδες επιμύων που έλαβαν L-NAME χωρίστηκαν ως εξής: αυτές που έλαβαν φυσιολογικό ορό και φυσιολογικό ορό, φυσιολογικό ορό και L-NAME 1.0 mg/kg, φυσιολογικό ορό και L-NAME 3.0 mg/kg, απομορφίνη 1.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, απομορφίνη 1.0 mg/kg και L-NAME 1.0 mg/kg και τέλος απομορφίνη 1.0 mg/kg και L-NAME 3.0 mg/kg.

Οι ομάδες θεραπείας με 7-NI ήταν οι εξής: φυσιολογικό ορό και φυσιολογικό ορό, φυσιολογικό ορό και 7-NI 1.0 mg/kg, φυσιολογικό ορό και 7-NI 3.0 mg/kg, απομορφίνη 1.0 mg/kg και φυσιολογικό ορό, απομορφίνη 1.0 mg/kg και 7-NI 1.0 mg/kg και τέλος απομορφίνη 1.0 mg/kg και 7-NI 3.0 mg/kg.

Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν αμέσως μετά τη T1 δοκιμασία και τρεις ώρες αργότερα διενεργήθηκε η δοκιμή επιλογής T2.

Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση τιμή \pm στατιστικό λάθος ($m \pm SEM$). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων της δράσης των διαφόρων δόσεων απομορφίνης επί της μνήμης έγινε με ανάλυση διακύμανσης με ένα παράγοντα (one-way ANOVA). Οι εκ των υστέρων

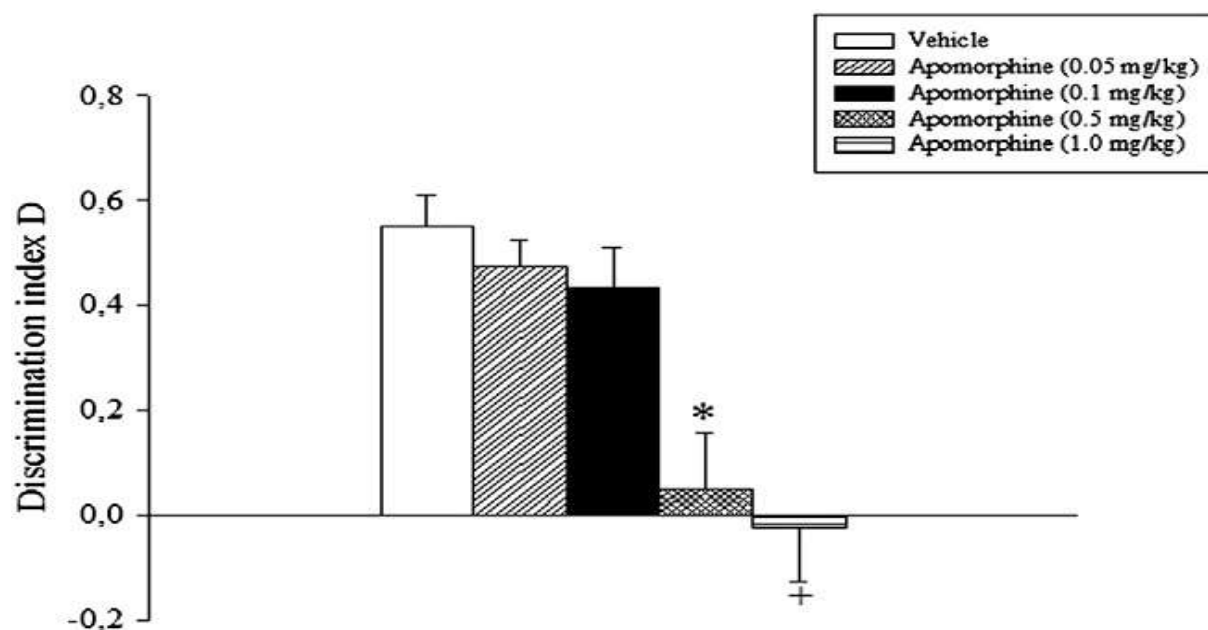
συγκρίσεις έγιναν με τη χρήση του τεστ Tukey. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων σχετιζόμενα με τη δράση των δοτών του NO και των αναστολέων της NOS στην επαγόμενη από την απομορφίνη διαταραχή της αναγνωριστικής μνήμης έγινε χρησιμοποιώντας ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA). Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έγιναν με τη χρήση του τεστ Tukey. Τέλος η τιμή του $P < 0.05$ θεωρείται ως στατιστικά σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επίδραση της χορήγησης διαφορετικών δόσεων απομορφίνης μετά την δοκιμή εκπαίδευσης στη ΔΑΝΑ.

Στην Εικ.3. φαίνεται η δόσοεξαρτώμενη έκπτωση στην αναγνωριστική μνήμη που προκαλείται από την απομορφίνη κατά τη ΔΑΝΑ. Η ανάλυση του δείκτη διάκρισης D (Εικ.3) ανέδειξε σημαντική επίδραση της απομορφίνης ($F_{4, 39} = 9.43, P < 0.01$). Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι οι επίμυες που έλαβαν 0.5 και 1.0 mg/kg απομορφίνης είχαν σημαντικά χαμηλότερο δείκτη διάκρισης D σε σύγκριση με όλες τις άλλες πειραματικές ομάδες ($P < 0.05$). Οι μικρότερες δόσεις απομορφίνης (0.05 και 0.1 mg/kg) δεν επηρέασαν την απόδοση των πειραματόζωων στη ΔΑΝΑ ($P > 0.05$) σε σύγκριση με τους επίμυες που έλαβαν φυσιολογικό ορό.

Οι στατιστικές αναλύσεις της κινητικής δραστηριότητας και του συνολικού χρόνου εξερεύνησης κατά την δοκιμή επιλογής T2 δεν έδειξε καμία επίδραση της απομορφίνης σε αυτές τις παραμέτρους. (Πίνακας 2).



Εικόνα. 3. Επίδραση διαφορετικών δόσεων απομορφίνης επί της ικανότητας εκτέλεσης της ΔΑΝΑ από τους επίμυες όπως αξιολογείται από τον δείκτη διάκρισης D. Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή \pm SEM από 10 επίμυες ανά πειραματική ομάδα. Ο φυσιολογικός ορός καθώς και οι διάφορες δόσεις της απομορφίνης συγχωρηγήθηκαν *ip* αμέσως μετά τη T1. * $P < 0.05$ σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες (με εξαίρεση την ομάδα που έλαβε απομορφίνη 1.0 mg/kg). ⁺ $P < 0.05$ σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες (με εξαίρεση την ομάδα που έλαβε απομορφίνη 0.5 mg/kg).

Effects of apomorphine on rats' performance in the NORT.

Group	N	Motor activity (number of steps)	Exploration time (s)
Vehicle	10	50.1 ± 4.9	13.4 ± 0.7
Apomorphine (0.05 mg/kg)	10	54.3 ± 4.1	12.8 ± 1.0
Apomorphine (0.1 mg/kg)	10	51.1 ± 5.6	12.9 ± 1.4
Apomorphine (0.5 mg/kg)	10	55.4 ± 7.8	12.3 ± 1.3
Apomorphine (1.0 mg/kg)	10	60.8 ± 8.6	11.5 ± 0.8

The values are mean ± SEM. N = number of rats. \bar{x}
Apomorphine was injected intraperitoneally immediately after the sample phase.

Πίνακας 1. Επίδραση διαφορετικών δόσεων απομορφίνης επί της ικανότητας εκτέλεσης της ΔΑΝΑ (συνολική κινητικότητα και συνολικός χρόνος εξερεύνησης κατά τη T2). Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± SEM από 10 επίμυες ανά πειραματική ομάδα. Ο φυσιολογικός ορός καθώς και οι διάφορες δόσεις της απομορφίνης συγχորηγήθηκαν ip αμέσως μετά τη T1.

Επίδραση των δοτών του NO μολσιδομίνης και SNP επί της επαγόμενης από την απομορφίνη διαταραχή της αναγνωριστικής μνήμης στη ΔΑΝΑ

Στις Εικ. 4Α και 4Β αναδεικνύεται ότι και οι δύο δότες του NO (μολσιδομίνη και SNP) αντέστρεψαν τα ελλείμματα αναγνωριστικής μνήμης που προκάλεσε η απομορφίνη κατά την εκτέλεση της ΔΑΝΑ. Η ανάλυση των δεδομένων του δείκτη διάκρισης D για τις ομάδες που έλαβαν μολσιδομίνη και απομορφίνη ανέδειξε σημαντική στατιστικά αλληλεπίδραση μεταξύ απομορφίνης και μολσιδομίνης ($F_{2, 59} = 3.7$, $P < 0.05$) και σημαντική επίδραση της απομορφίνης ($F_{1, 59} = 12.4$, $P < 0.01$) αλλά όχι της μολσιδομίνης ($P > 0.05$).

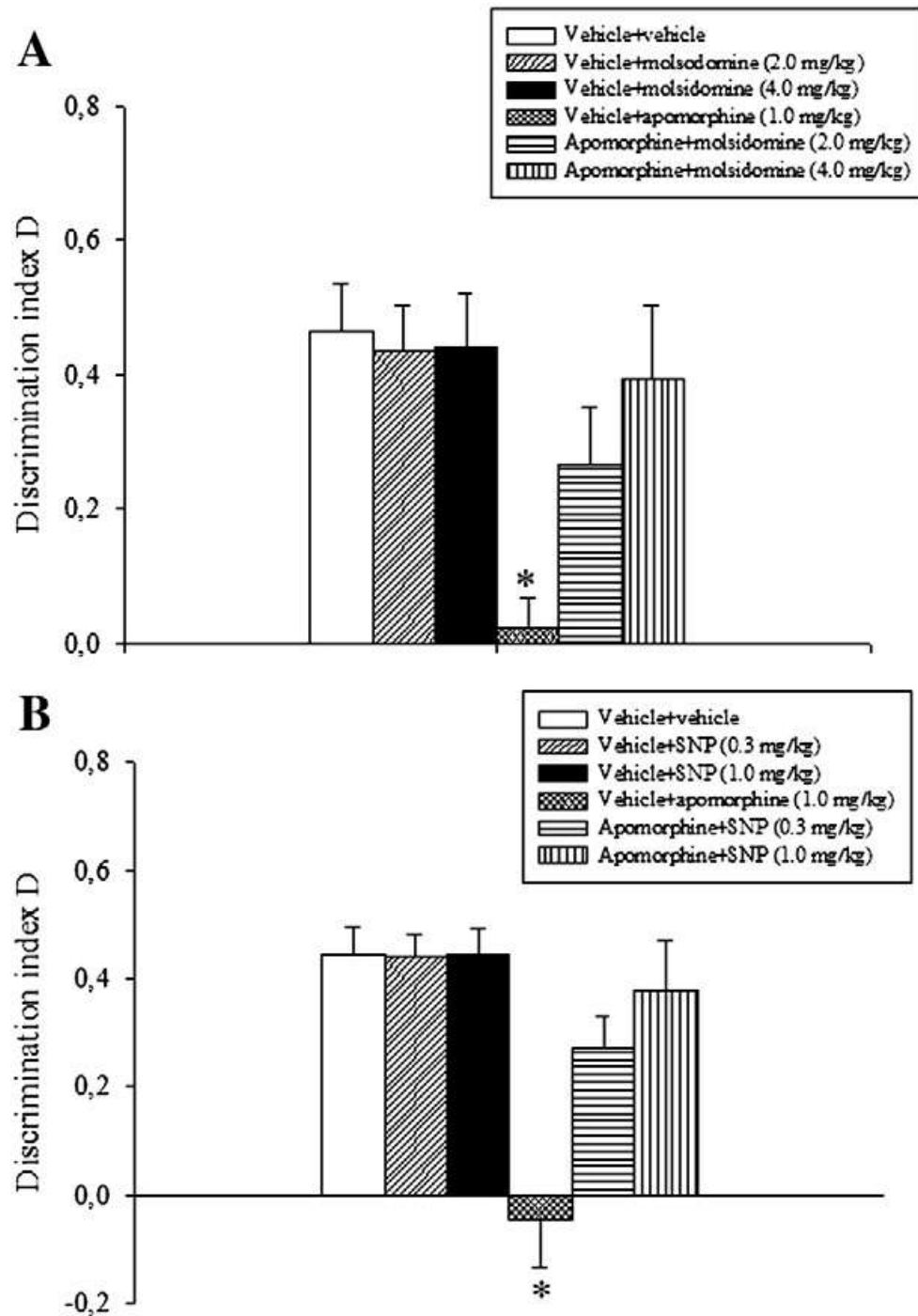
Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι ο δείκτης διάκρισης D της ομάδας των επίμυων που έλαβαν φυσιολογικό ορό και απομορφίνη ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος σε σύγκριση με όλες τις άλλες ομάδες ($P < 0.05$, Εικ. 4Α).

Ομοίως, η ανάλυση των δεδομένων του δείκτη διάκρισης D για τις επιπτώσεις του SNP επί των μνησιακών διαταραχών που προκλήθηκαν από τη χορήγηση απομορφίνης (Εικ. 4Β) έδειξε μία στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ απομορφίνης και SNP ($F_{2, 59} = 5.4$, $P = 0.007$), μια σημαντική επίδραση της απομορφίνης ($F_{1, 59} = 19.2$, $P < 0.01$) αλλά και του SNP ($F_{2, 59} = 5.3$, $P = 0.008$).

Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι ο δείκτης διάκρισης D της ομάδας των επίμυων που έλαβαν φυσιολογικό ορό και απομορφίνη ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος σε σύγκριση με όλες τις άλλες ομάδες ($P < 0.05$, Εικ. 4B).

Στην ανάλυση των δεδομένων της κινητικής δραστηριότητας (Πίνακας 2A) αναδείχθηκε μια στατιστικά σημαντική επίδραση της μολσιδομίνης σε συνδυασμό με την απομορφίνη ($F_{2, 59} = 4.7$, $P = 0.013$), αλλά καμία επίδραση της απομορφίνης ($P > 0.05$) ή της μολσιδομίνης ($P > 0.05$) ξεχωριστά. Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι οι ομάδες επίμυων που έλαβαν απομορφίνη σε συνδυασμό με μολσιδομίνη είχαν χαμηλότερη κινητική δραστηριότητα από τις ομάδες επίμυων που έλαβαν φυσιολογικό ορό με μολσιδομίνη ($P < 0.05$) κατά τη διάρκεια της δοκιμής επιλογής T2. Οι χρόνοι εξερεύνησης αντικειμένου δεν διέφεραν μεταξύ των διαφόρων πειραματικών ομάδων (Πίνακας 2A).

Η ανάλυση της κινητικής δραστηριότητας και του συνολικού χρόνου εξερεύνησης των αντικειμένου κατά την T2 για τις ομάδες επίμυων που έλαβαν SNP σε συνδυασμό με απομορφίνη δεν ανέδειξαν αξιοσημείωτη επίδραση της απομορφίνης, του SNP ή της απομορφίνης σε συνδυασμό με SNP (Πίνακας 2B) στις προαναφερθείσες παραμέτρους.



Εικόνα 4. Επίδραση των δοτών του NO μολσιδομίνη (A) και SNP (B) επί των ελλειμμάτων αναγνωριστικής μνήμης επαγομένων από την απομορφίνη κατά την εκτέλεση της ΔΑΝΑ από τους επίμυες όπως αξιολογείται από τον δείκτη διάκρισης D. Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± SEM από 10 επίμυες ανά πειραματική ομάδα. Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν ip αμέσως μετά τη T1. *P<0.05 σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

Effects of apomorphine and NO donors molsidomine (A) and SNP (B) on rats' performance in the NORT.				
Group	N	Motor activity (number of steps)	Exploration time (s)	t2.2 t2.3
A				
Vehicle + vehicle	10	49.9 ± 5.3	11.9 ± 0.6	t2.4 t2.5
Vehicle + molsidomine (2.0 mg/kg)	10	59.3 ± 3.8	11.7 ± 0.5	t2.6
Vehicle + molsidomine (4.0 mg/kg)	10	50.1 ± 4.6	11.4 ± 0.8	t2.7
Apomorphine (1.0 mg/kg) + vehicle	10	58.0 ± 6.1	12.6 ± 0.9	t2.8
Apomorphine + molsidomine (2.0 mg/kg)	10	41.0 ± 2.8*	11.4 ± 0.8	t2.9
Apomorphine + molsidomine (4.0 mg/kg)	10	37.5 ± 3.9 ⁺	12.1 ± 0.8	t2.10 t2.11
B				
Vehicle + vehicle	10	51.9 ± 3.2	14.2 ± 1.1	t2.12
Vehicle + SNP (0.3 mg/kg)	10	53.7 ± 3.2	13.8 ± 0.6	t2.13
Vehicle + SNP (1.0 mg/kg)	10	54.3 ± 3.9	14.1 ± 0.7	t2.14
Apomorphine (1.0 mg/kg) + vehicle	10	57.7 ± 3.3	13.9 ± 0.5	t2.15
Apomorphine + SNP (0.3 mg/kg)	10	47.5 ± 2.4	12.8 ± 0.6	t2.16
Apomorphine + SNP (1.0 mg/kg)	10	47.4 ± 3.9	13.9 ± 0.8	t2.17 t2.18
The values are mean ± SEM. N = number of rats. Compounds were injected intraperitoneally immediately after the sample phase.				
* P<0.05 vs the vehicle + molsidomine 2.0 mg/kg group.				t2.20
+ P<0.05 vs the vehicle + molsidomine 4.0 mg/kg group.				t2.21

Πίνακας 2. Επίδραση των δοτών του NO μολσιδομίνη (A) και SNP (B) επί της ικανότητας εκτέλεσης της ΔΑΝΑ (συνολική κινητικότητα και συνολικός χρόνος εξερεύνησης κατά τη T2). Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± SEM από 10 επίμυες ανά πειραματική ομάδα. Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν ip αμέσως μετά τη T1.

Επίδραση των αναστολέων της NOS L-NAME και 7-NI επί της επαγόμενης από την απομορφίνη διαταραχή της αναγνωριστικής μνήμης στη ΔΑΝΑ

Στην Εικ.5 αναδεικνύεται ότι η χορήγηση L-NAME (Εικ. 5A) και 7-NI (Εικ. 5B) προκαλεί δόσοεξαρτώμενη αναστροφή της επαγόμενης από την απομορφίνη έκπτωσης της βραχυχρόνιας μνήμης κατά την ΔΑΝΑ. Η ανάλυση των στοιχείων του δείκτη διάκρισης D για τις ομάδες επίμυων

που έλαβαν L-NAME σε συνδυασμό με απομορφίνη ανέδειξε μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της απομορφίνης και του L-NAME ($F_{2, 59} = 7.6, P < 0.01$), μια σημαντική επίδραση της απομορφίνης ($F_{1, 59} = 13.5, P < 0.01$) και του L-NAME ($F_{2, 59} = 8.2, P < 0.01$).

Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι οι ομάδα επίμυων που έλαβε φυσιολογικό ορό με απομορφίνη εμφάνισε χαμηλότερο δείκτη συγκριτικά με όλες τις άλλες πειραματικές ομάδες ($P < 0.05$, Εικ. 5Α).

Ομοίως, η ανάλυση των δεδομένων του δείκτη διάκρισης D για τις ομάδες επίμυων που έλαβαν 7-NI σε συνδυασμό με απομορφίνη (Εικ. 5Β) έδειξε μία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της απομορφίνης και του 7-NI ($F_{2, 59} = 5, P = 0.01$) μια σημαντική επίδραση της απομορφίνης ($F_{1, 59} = 26.2, P < 0.01$) και του 7-NI ($F_{2, 59} = 5.3, P < 0.008$).

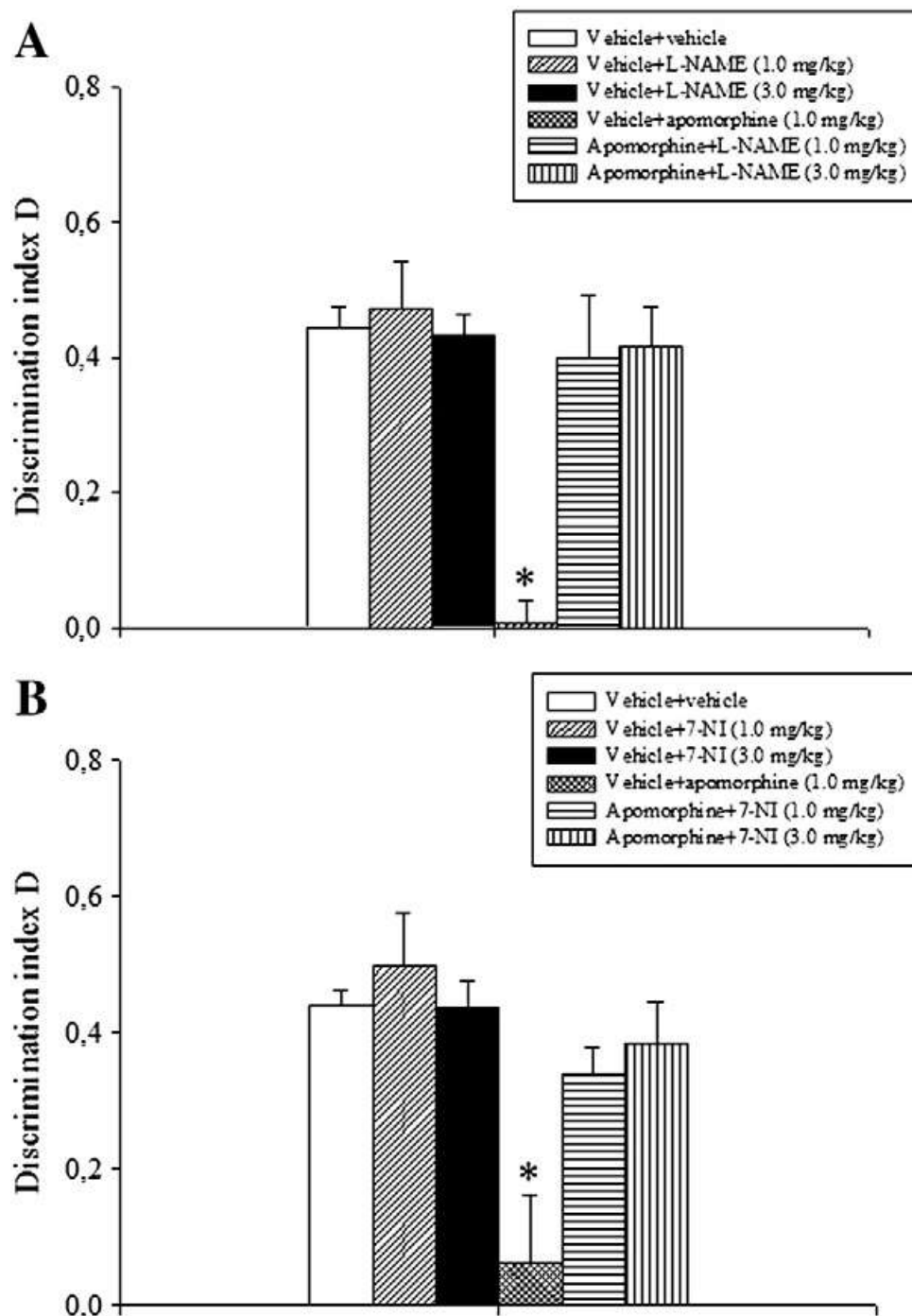
Οι εκ των υστέρων συγκρίσεις έδειξαν ότι οι ομάδα επίμυων που έλαβε φυσιολογικό ορό και απομορφίνη είχε χαμηλότερο δείκτη διάκρισης, συγκριτικά με όλες τις άλλες πειραματικές ομάδες ($P < 0.05$, Εικ. 5Β).

Η ανάλυση της κινητικής δραστηριότητας και του συνολικού χρόνου εξερεύνησης αντικειμένου δεν ανέδειξε καμία επίδραση της απομορφίνης, του L-NAME και των συνδυασμών τους όσον αφορά αυτές τις παραμέτρους. (Πίνακας 3Α).

Η ανάλυση της κινητικής δραστηριότητας για τις ομάδες που έλαβαν 7-NI σε συνδυασμό με απομορφίνη έδειξε ότι το 7-NI προκαλεί μείωση της

κινητικής δραστηριότητας ($F_{1, 59} = 4.74, P = 0.013$, Πίνακας 3B) ενώ η απομορφίνη δεν είχε καμία επίδραση ($P > 0.05$). Δεν αναδείχθηκε επίσης καμία στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της απομορφίνης και του 7-NI στη κινητικότητα ($P > 0.05$).

Επιπλέον, δεν υπήρξε σημαντική επίδραση της απομορφίνης και του 7-NI καθώς και των συνδυασμών τους επί του συνολικού χρόνου εξερεύνησης των πειραματόζωων (Πίνακας 3B).



Εικόνα 5. Επίδραση των αναστολέων της NOS L-NAME (A) και 7-NI (B) επί των ελλειμμάτων αναγνωριστικής μνήμης επαγομένων από την απομορφίνη κατά την εκτέλεση της ΔΑΝΑ από τους επίμνες όπως αξιολογείται από τον δείκτη διάκρισης D. Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± SEM από 10 επίμνες ανά πειραματική ομάδα. Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν ip αμέσως μετά τη T1. *P<0.05 σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

Table 3. Effects of apomorphine and NOS inhibitors L-NAME (A) and 7-NI (B) on rats' performance in the NORT.

Group	N	Motor activity (number of steps)	Exploration time (s.)
A			
Vehicle+vehicle	10	43.7±2.7	12.4±0.7
Vehicle+L-NAME (1.0 mg/kg)	10	45.2±3.7	14.2±1.0
Vehicle+L-NAME (3 mg/kg)	10	43.4±2.9	12.0±0.8
Apomorphine (1.0 mg/kg)+vehicle	10	49.8±2.3	12.4±0.7
Apomorphine+L-NAME (1.0 mg/kg)	10	41.2±4.6	11.2±0.7
Apomorphine+L-NAME (3.0 mg/kg)	10	41.7±5.1	12.4±1.0
B			
Vehicle+vehicle	10	51.5±2.9	13.6±0.8
Vehicle+7-NI (1.0 mg/kg)	10	46.6±2.8	14.3±1.8
Vehicle+7-NI (3.0 mg/kg)	10	47.5±3.3	14.2±0.6
Apomorphine (1.0 mg/kg)+vehicle	10	54.3±3.7	14.1±0.6
Apomorphine+7-NI (1.0 mg/kg)	10	43.9±3.5	13.2±0.6
Apomorphine+7-NI (3.0 mg/kg)	10	43.3±2.2	13.0±1.0

The values are mean ± SEM. N=number of rats. Compounds were injected intraperitoneally immediately after the sample phase.

Πίνακας 3. Επίδραση των αναστολέων της NOS L-NAME (A) και 7-NI (B) επί της ικανότητας εκτέλεσης της ΔΑΝΑ (συνολική κινητικότητα και συνολικός χρόνος εξερεύνησης κατά τη T2). Τα αποτελέσματα αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± SEM από 10 επίμυες ανά πειραματική ομάδα. Τα φάρμακα συγχορηγήθηκαν ip αμέσως μετά τη T1.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της έρευνας αναδεικνύουν ότι ο αγωνιστής των D1/D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων απομορφίνη προκαλεί δόσοεξαρτώμενη εξασθένηση της βραχυπρόθεσμης αναγνωριστικής μνήμης.

Συγκεκριμένα, η χορήγηση υψηλών δόσεων της απομορφίνης (0.5 και 1.0 mg/kg) είχε αρνητική επίδραση στην εκτέλεση της ΔΑΝΑ από τους επίμυες, ενώ οι χαμηλότερες δόσεις των 0.05 και 0.1 mg/kg δεν είχαν καμία επίδραση επί της μνήμης.

Η απομορφίνη χορηγήθηκε αμέσως μετά τη δοκιμή εκπαίδευσης (T1), η δοκιμή επιλογής (T2) πραγματοποιήθηκε 3 ώρες μετά τη T1 και η απομορφίνη έχει βραχύτατη διάρκεια δράσης [84]. Συνεπώς είναι απίθανο η απομορφίνη να επιδρά στις διαδικασίες ανάκτησης μνημονικών πληροφοριών. Το πιθανότερο είναι ότι η απομορφίνη έδρασε μέσω μιας σειράς κυτταρικών και μοριακών αλλαγών που απαιτούνται για την αποθήκευση ερεθισμάτων συνδεδομένων με τη βραχυπρόθεσμη μνήμη.

Η έκπτωση της αναγνωριστικής μνήμης που προκλήθηκε από τις υψηλότερες δόσεις της απομορφίνης είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες που δείχνουν ότι η απομορφίνη εξασθενεί τις γνωσιακές λειτουργίες τόσο σε επίμυες όσο και σε ανθρώπους [64,67,69,70,71,72].

Η μεταβολή της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στον πλαγιοπίσθιο προμετωπιαίο φλοιό (dlPFC) έχει προταθεί ως το πιθανό παθοφυσιολογικό υπόστρωμα αυτής της εκπτωτικής δράσης της απομορφίνης στη γνωσιακή λειτουργία [68,69]. Ωστόσο, χορήγηση απομορφίνης μεταβάλλει τη ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση και σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου, όπως στο ραβδωτό σώμα. Ο προμετωπιαίος φλοιός και το ραβδωτό σώμα αποτελούν μέρος του φλοιικού-ραβδωτού-θαλαμικού άξονα [85] και επίσης συνδέονται επιπλέον με τις γνωσιακές, τις κινητικές και τις λειτουργίες ανταμοιβής-ανταπόδοσης. Ειδικότερα, η περιοχή του προμεταιχμιακού προμετωπιαίου φλοιού και το κοιλιακό ραβδωτό σώμα (επικλινής πυρήνας) της φλοιοραβδωτής οδού έχει τεκμηριωθεί ότι παίζουν ρόλο στην καταγραφή και αποθήκευση πληροφοριών σχετιζομένων με ερεθίσματα του περιβάλλοντος [86], όπως συμβαίνει και κατά την λειτουργία της μνήμης αναγνώρισης αντικειμένου [87].

Λειτουργικές μελέτες έχουν προτείνει ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ντοπαμινεργικής και γλουταμινεργικής νευροδιαβίβασης στο κοιλιακό ραβδωτό σώμα επιδρούν στην ευόδωση της καταγραφής αυτών των προαναφερθεισών πληροφοριών [88].

Η χορήγηση των δοτών του NO μολσιδομίνης και SNP, αλλά και των αναστολέων της NOS L-NAME και 7-NI, ανέστρεψε την προκαλούμενη

από την απομορφίνη έκπτωση της αναγνωριστικής μνήμης. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με προηγούμενες έρευνες όπου δότες του NO (μολσιδομίνη και SNAP) ανέστρεψαν τα ελλείμματα αναγνωριστικής και χωρικής μνήμης σε επίμυες, που προκλήθηκαν από χορήγηση του ανταγωνιστή του NMDA υποδοχέα MK-801 [52,89]. Παρόμοια, ο αναστολέας της NOS L-NAME, ανέστρεψε τις διαταραχές της αναγνωριστικής και της χωρικής μνήμης σε επίμυες που προκλήθηκαν από χορήγηση των NMDA ανταγωνιστών κεταμίνη και φαινκυκλιδίνη (PCP) [51,90].

Επιπρόσθετα, η επαγόμενη αύξηση των επιπέδων του cGMP από χορήγηση PCP συνδέεται με διαταραχές αντίληψης. Είναι αξιοσημείωτο ότι το L-NAME ανταγωνίστηκε αυτά τα ελλείμματα αντίληψης που προκλήθηκαν από τη χορήγηση της PCP [91]. Έχει επίσης αναφερθεί ότι οι αναστολείς της NOS αμβλύνουν τις αρνητικές συμπεριφορικές επιπτώσεις που προκαλούνται από χορήγηση της PCP [61,91,92,93,94].

Έως σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες που να έχουν ασχοληθεί με τη δράση του SNP και του 7-NI επί γνωσιακών ελλειμμάτων οφειλομένων στη δυσλειτουργία είτε του γλουταμινικού είτε του ντοπαμινεργικού συστήματος. Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης για πρώτη φορά αποδεικνύουν ότι τόσο οι δότες του NO όσο και οι αναστολείς της NOS μπορούν να αποκαταστήσουν τα ελλείμματα της αναγνωριστικής μνήμης

που προκαλούνται από δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου οι δότες του NO όσο και οι αναστολείς της NOS ασκούν την δράση τους στην επαγόμενη από την απομορφίνη έκπτωση της μνήμης δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Πρόσθετες μελέτες θα χρειαστούν για τη διαλεύκανση αυτού του σημαντικού ζητήματος. Σε αυτό το πλαίσιο είναι γνωστό η ντοπαμίνη ρυθμίζει την εξαρτώμενη από το NMDA ενεργοποίηση της NOS και σύνθεση του NO στους νευρώνες του ραβδωτού σώματος [59].

Σε αυτό το πλαίσιο η δραστηριότητα της NOS προωθείται από την διέγερση των D1 ντοπαμινεργικών υποδοχέων στο ραβδωτό σώμα. Αντίθετα η δραστηριότητα της NOS ρυθμίζεται ανασταλτικά μέσω της ενεργοποίησης των D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων από ένα μηχανισμό που είναι για την ώρα άγνωστος [95]. Επίσης είναι αποδεδειγμένο ότι η ενίσχυση της αναγνωριστική μνήμης οφειλόμενη σε χορήγηση χαμηλών δόσεων απομορφίνης συνδέεται με την ενεργοποίηση των D1 ντοπαμινεργικών υποδοχέων [78]. Αντίθετα τα γνωσιακά ελλείμματα που προκαλούνται από τη χορήγηση υψηλών δόσεων απομορφίνης συνδέονται με διέγερση των D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων [96]. Αυτή η ενεργοποίηση των D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων που είναι βλαπτική για τη μνήμη δύναται να αναστείλει την διαμεσολαβούμενη από την ενεργοποίηση των D1 ντοπαμινεργικών υποδοχέων της δραστηριότητας

της NO [97]. Πιθανότατα η χορήγηση δοτών του NO δρα σε αυτή τη διαδικασία και επαναφέρουν στα φυσιολογικά επίπεδα τη δραστηριότητα της NOS και την αναγνωριστική μνήμη.

Οι ευεργετικές δράσεις των αναστολέων της NOS πιθανόν να οφείλονται στον ακόλουθο μηχανισμό. Είναι αποδεδειγμένο ότι η απομορφίνη, παρόμοια με τη PCP [91], αυξάνει τα επίπεδα του cGMP στον εγκέφαλο [98]. Αύξηση του cGMP προκαλεί υπερπαραγωγή NO και γνωσιακά ελλείμματα. Πιθανότατα οι αναστολείς της NOS μειώνοντας τα επίπεδα του cGMP επάγουν μείωση, δηλαδή επαναφορά της NOS στα φυσιολογικά επίπεδα και συνεπώς απαλοιφή των διαταραχών μνήμης. Έτσι, οι ευεργετικές επιδράσεις των δοτών του NO και των αναστολέων της NOS επί των γνωσιακών ελλείμματα μπορεί να οφείλεται σε δύο αντίθετα λειτουργικά συστήματα.

Η δράση των φαρμάκων στις παραμέτρους προσοχής, αισθητικοκινητικότητας και κινήτρων, θα μπορούσε να επηρεάσει την απόδοση των ζώων. Ωστόσο, οι επίμνες αξιολογήθηκαν 3 ώρες μετά τη χορήγηση του φαρμάκου, όταν οι επιπτώσεις για αυτούς τους παράγοντες έχουν ως επί το πλείστον εξαφανισθεί. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη κινητική δραστηριότητα αλλά και στη εξερευνητική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της δοκιμής επιλογής T2 μεταξύ των διαφορετικών πειραματικών ομάδων με εξαίρεση τις ομάδα

επίμυων που έλαβε απομορφίνη και μολσιδομίνη καθώς την ομάδα που έλαβε απομορφίνη και 7-NI. Παρόλο που αυτές οι ομάδες εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα κινητικής δραστηριότητας, ο συνολικός χρόνος εξερεύνησης τους κατά τη δοκιμή T2 δεν ήταν διαφορετικός από αυτό των μαρτύρων. Είναι σημαντικό, ότι παρά την μειωμένη κινητικότητα, η εξερευνητική συμπεριφορά τους και η γνωσιακή τους επίδοση μετρούμενη με τον δείκτη D δεν ήταν διαφορετική από την ομάδα των μαρτύρων (που έλαβε φυσιολογικό ορό).

Το NO φαίνεται να εμπλέκεται σε αγχογόνες/αγχολυτικές διαδικασίες [99,100,101]. Αν και στην παρούσα μελέτη ο ρόλος του NO επί του άγχους δεν αξιολογήθηκε άμεσα, ωστόσο η συναισθηματική κατάσταση (π.χ. επεισόδια νεοφοβίας, αφόδευσης, ούρησης) των επίμυων που τους χορηγήθηκε απομορφίνη, δότες του NO και αναστολείς της NOS είτε ο συνδυασμός των φαρμάκων αυτών δεν ήταν διαφορετική από εκείνη που εμφάνισαν οι επίμυες στους οποίους χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός (αδημοσίευτες παρατηρήσεις).

Η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου δεν περιλαμβάνει παράγοντες ανταμοιβής /τιμωρίας, αλλά βασίζεται στην έμφυτη περιέργεια των επίμυων να προτιμούν τα νέα άγνωστα ερεθίσματα [102] και δεν φαίνεται να επηρεάζονται από άλλους παράγοντες [103]. Η διαδικασία αυτή είναι παρόμοια με τις διαδικασίες που συναντάμε και

στον άνθρωπο και ως εκ τούτου θα πρέπει να θεωρηθεί ότι έχει υψηλή κλινική εγκυρότητα [88].

Είναι επιστημονικά τεκμηριωμένος ο ρόλος του NO επί της αρτηριακής πίεσης. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι οι δότες του NO προκαλούν μείωση της αρτηριακής πίεσης, ενώ αντίθετα οι αναστολείς της NOS αύξηση [104]. Είναι δύσκολο ωστόσο, να αξιολογηθεί το πώς και σε ποιο βαθμό αυτές οι καρδιοαγγειακές επιδράσεις μπορεί να επηρεάσουν την γνωσιακή απόδοση των επίμυων. Είναι γνωστό ότι οι αναστολείς της NOS προκαλούν μέγιστο υπερτασικό αποτέλεσμα σε δόση 10.0 mg/kg [105], μια δόση σημαντικά υψηλότερη από εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα οι οποίες δεν επηρεάζουν την απόδοση των επίμυων κατά την εκτέλεση της ΔANA [80]. Συνεπώς, η πιθανή υπερτασική δράση του L-NAME να έχει επίπτωση στις συμπεριφορικές μπορεί να αποκλεισθεί. Επίσης το 7-NI είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της ισομορφής nNOS και δεν προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης στις δόσεις που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη [106]. Όσο αφορά τη μολσιδομίνη, οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα έρευνα ήταν πολύ χαμηλές και στερούνται παρενεργειών [52]. Τέλος, έχει αναφερθεί ότι η συστολική πίεση μειώθηκε μετά από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση 1.0 mg/kg του SNP [79] σε επίμυες. Επειδή όλοι αυτοί οι ρυθμιστές του NO έχουν ίδια

ευεργετική δράση επί της μνήμης φαίνεται απίθανο η δράση των ουσιών αυτών επί της αρτηριακής πίεσης να συνδέεται με τις διαδικασίες της μνήμης.

Ωστόσο, αν αυτοί οι ρυθμιστές του NO δύνανται να ενισχύσουν τις γνωστικές λειτουργίες μέσω μεταβολών στην εγκεφαλική αιμάτωση και στο μεταβολισμό παραμένει ακόμη άγνωστο.

Συνοπτικά, τα ευρήματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι η ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναγνωριστική μνήμη. Επιπλέον, τα παρόντα ευρήματα δείχνουν ότι τόσο οι δότες του NO όσο και οι αναστολείς της NOS ανταγωνίζονται τις διαταραχές της αναγνωριστικής μνήμης που προκαλούνται από τη δυσλειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Kraepelin E Dementia praecox and paraphrenia (transl. RM Barclay,GM Robertson Livingstone, Edimburg 1919
- [2] Bleuler E Die prognose der Dementia praecox-Schizophrenie gruppe Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie, 65 436-64 1908
- [3] Schneider K Clinical Psychopathology New York Grune and Stratton 1959
- [4] Jablensky A Schizophrenia: the epidemiological horizon. In Schizophrenia (ed. S.R. Hirsch and D.R. Weinberger) pp. 206-248 Blackwell Science, Oxford.
- [5] Cowell P, Kostianovsky D, Gur R, Turetsky B, Gur R. Sex differences in neuroanatomical and clinical correlations in schizophrenia. Am J Psychiatr 1996; 153:799-805
- [6] Cannon TD, Kaprio J, Lönnqvist J, Huttunen M, Koskenvuo M. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. Arch Gen Psychiatry. 1998 Jan;55(1):67-74.
- [7] Sun J, Kuo PH, Riley BP, Kendler KS, Zhao Z. Candidate genes for schizophrenia: a survey of association studies and gene ranking. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008 Oct 5;147B(7):1173-81.
- [8] Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jun 5;98(12):6917-22.
- [9] Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM,

Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lönnqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoëga T, Helgason T. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 2003 Jul;73(1):34-48.

[10] Stefansson H, Steinthorsdottir V, Thorgeirsson TE, Gulcher JR, Stefansson K. Neuregulin 1 and schizophrenia. *Ann Med.* 2004;36(1):62-Review.

[11] Cannon M, Jones PB, Murray RM. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry.* 2002 Jul;159(7):1080-92.

[12] Brown AS. The risk for schizophrenia from childhood and adult infections. *Am J Psychiatry.* 2008 Jan;165(1):7-10.

[13] Brown AS: Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr Bull* 2006; 32:200–202.

[14] Lewis G, David A, Andréasson S, Allebeck P. Schizophrenia and city life. *Lancet.* 1992 Jul 18;340(8812):137-40.

[15] Fearon P, Kirkbride JB, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Lloyd T, Hutchinson G, Tarrant J, Fung WL, Holloway J, Mallett R, Harrison G, Leff J, Jones PB, Murray RM; Incidence of schizophrenia and other psychoses in ethnic minority groups: results from the MRC AESOP Study. AESOP Study Group. *Psychol Med.* 2006 Nov;36(11):1541-50.

[16] Greenberg JR, Mitchell SA. Objects Relations in Psychoanalytic

Theory. Cambridge, Harvard University Press, 1983

[17] Chance SA, Esiri MM, Crow TJ. Macroscopic brain asymmetry is changed along the antero-posterior axis in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2005 May 1;74(2-3):163-70.

[18] Hirao K, Miyata J, Fujiwara H, Yamada M, Namiki C, Shimizu M, Sawamoto N, Fukuyama H, Hayashi T, Murai T Theory of mind and frontal lobe pathology in schizophrenia: a voxel-based morphometry study. *Schizophr Res.* 2008 Oct;105(1-3):165-74.

[19] Robinson DG, Woerner MG, Mc Meniman M, Mendelowitz A, Bilde RM. Symptomatic and functional recovery from a first episode of schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 2004;161:473-479.

[20] Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 682-685.

[21] Giral-di-Guimaraes A, Bittencourt-Navarrete E E, Mendez-Oter RC. Expression of neuronal nitric oxide synthase in the developing superficial layers of rat superior colliculus. *Braz. J. Med. Biol Res* , 2004, 37, 869-877.

[22] Mayer, B.; Hemmens, B Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem. Sci.*, 1997,22, 477-481.

[23] Weitzberg, E.; Hezel, M.; Lundberg J O. Nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: implications for anesthesiology and intensive care. *Anesthesiology*,2010, 113, 1460-1475.

[24] Calabrese, V.; Mancuso, C.; Calvani, M.; Rizzarelli, E.; Butterfield, D.A.; Stella, A.M. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2007, 8, 766-775.

- [25] Steinert, J.R.; Chernova, T.; Forsythe, I D. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neuroscientist*, 2010, 16, 435-452.
- [26] Hobbs, A.J.; Ignarro, L.J. Nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system. *Methods Enzymol.*, 1996, 269, 134-148.
- [27] Russwurm, M.; Koesling, D. Guanyl cyclase: NO hits its target. *Biochem. Soc. Symp.*, 2004, 71, 51-63.
- [28] Haley JE, Wilcox GL, Chapman PF. The role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Neuron* 1992; 8:211–6.
- [29] Bauer, V.; Sotnikova, R. Nitric oxide - the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions. *Gen. Physiol.*, 2010, 29, 319-340.
- [30] Endres, M.; Laufs, U.; Liao, J.K.; Moskowitz, M.A. Targeting eNOS for stroke protection. *Trends Neurosci.*, 2004, 27, 283-289.
- [31] Andreasen, N.C. Brain imaging: applications in psychiatry. *Science*, 1988, 239, 1381-1388.
- [32] Galea, E.; Feinstein, D.I. Regulation of the expression of the inflammatory nitric oxide synthase (NOS2) by cyclic AMP. *FASEB J.*, 1999, 13, 2125-2137.
- [33] Fernandez-Vizarra, R.J.; Castro-Blanco, S.; Ventura, M.L.; Nieto, M.; Gomez-Isla, T.; Martinez-Murillo, R.; Martinez, A.; Serrano, J.; Fernandez, A.P. Nitric oxide in the cerebral cortex of amyloid precursor protein in (SW) Tg2576 transgenic mice. *Neuroscience*, 2004, 128, 73-89.
- [34] Kopiczna-Grzebieniak, E.; Goss, M. The importance of regulation of endogenous methylarginine concentrations in clinical practice. *Przegl. Lek.*, 2005, 62, 1494-1501.
- [35] Liou, Y.-J.; Tsai, S.-J.; Hong, C.-J.; Liao, D.-L. Association

analysis for the CA repeat polymorphism of the neuronal nitric oxide (NOS1) gene and schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2003, 65, 57-59.

[36] Brzustowicz, L. NOS1AP in schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.*, 2008, 10, 158-163.

[37] Zheng, Y.; Li, H.; Quin, W.; Duan, Y.; Xiao, Y.; Li, C.; Zhang, J.; Li, X.; Feng, G.; He, L. Association of the carboxy-I-terminal PDZ ligand of the neuronal nitric oxide synthase gene with schizophrenia in the Chinese Han population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 328, 809-815.

[38] Chissoe, S.; Ehm, M.G.; Jean, St. P. Genes associated with schizophrenia. US Patent Appl., 2008, 20080176239, p. 80.

[39] Bernstein H-G, Bogerts B, Keilhoff G. The many faces of nitric oxide in schizophrenia. 2005 ;78:69–86.

[40] Akbarian S, Bunney Jr WE, Potkin SG, Wigal SB, Hagman JO, Sandman CA, et al. Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate–diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbances of cortical development. *Gen Psychiatry* 1993a; 50:169–77.

[41] Xing, G.; Chavko, M.; Zhang, L.-X.; Yang, S.; Post, R.M. Decreased calcium-dependent constitutive nitric oxide synthase (cNOS) activity in prefrontal cortex in schizophrenia and depression. *Schizophr. Res.*, 2002, 58, 21-30.

[42] Bernstein, H.-G.; Stanarius, A.; Baumann, B.; Henning, H.; Krell, D.; Danos, P.; Falkai, P.; Bogerts, B. Nitric oxide synthase-containing neurons in the human hypothalamus: reduced number of
Nitric Oxide and Schizophrenia CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, 2011, Vol. 10, No. 7 11

immunoreactive cells in the paraventricular nucleus of depressed patients and schizophrenics. *Neuroscience*, 1998a, 83, 867-875.

[43] Bernstein, H.-G.; Heinemann, A.; Krell, D.; Dobrowolny, H.; Bielau, H.; Keilhoff, G.; Bogerts, B. Hypothalamic nitric oxide synthase in affective disorder: Focus on the suprachiasmatic nucleus. *Cell Mol. Biol.*, 2005b, 51, 279-284.

[44] Yao, J.K.; Leonard, S.S.; Reddy, R.D. Increased nitric oxide radicals in post-mortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr. Res.*, 2001, 49, 58.

[45] Suzuki, E.; Nakaki, T.; Nakamura, M.; Miyaoka, H. Plasma nitrate levels in deficit versus non-deficit forms of schizophrenia. *J. Psychiatr. Neurosci.*, 2003, 28, 288-292.

[46] Taneli F, Piridar S, Akdeniz F, Uyanik BS, Ari Z. Serum nitric oxide metabolite levels and the effect of antipsychotic therapy in schizophrenia. *Arch Med Res* 2004;35:401–5.

[47] Yilmaz N, Herken H, Cicek HK, Celik A, Yurekli M, Akyol O. Increased levels of nitric oxide, cortisol and adrenomedullin in patients with chronic schizophrenia. *Med Princ Pract* 2007;16:137–41.

[48] Nakano Y, Yoshimura R, Nakano H, Ikenouchi-Sugita A, Hori H, Umene-Nakano W, et al. Association between plasma nitric oxide metabolites levels and negative symptoms of schizophrenia: a pilot study. *Hum Psychopharmacol* 2010;25:139–44.

[49] Ramirez J, Garnica R, Boll MC, Montes S, Rios C. Low concentrations of nitrite and nitrate in the cerebrospinal fluid from schizophrenic patients. *Schizophr Res* 2004;68:357–61.

- [50] Bujas-Bobanovic M, Bird DC, Robertson HA, Dursun SM. Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *Br J Pharmacol* 2000;130:1005–12.
- [51] Boultadakis A, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide inhibitor L-NAME on recognition and spatial memory deficits produced by different NMDA receptor antagonists in the rat. *Neuropsychopharmacology* 2010;35:2357–66.
- [52] Pitsikas N, Zisopoulou S, Sakellaridis N. Nitric oxide donor molsidomine attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801. *J Neurosci Res* 2006;84:299–305.
- [53] Wass C, Archer T, Palsson E, Fejgin K, Klamer D, Engel JA, et al. Effects of phencyclidine on spatial learning and memory: nitric oxide-dependent mechanisms. *Behav Brain Res* 2006;171:147–53.
- [54] Oliver D. Howes and Shitij Kapur, *The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III—The Final Common Pathway*, 2009
- [55] Gibbs SE, D'Esposito M. A functional MRI study of the effects of bromocriptine, a dopamine receptor agonist, on component processes of working memory. *Psychopharmacology* 2005;180:644–53.
- [56] Cools R. Role of dopamine in the motivational and cognitive control of behaviour. *Neuroscientist* 2008;14:381–95.
- [57] Vijayraghavan S, Wang M, Birnbaum SG, Williams GV, Arnsten AF. Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. *Nat Neurosci* 2007;10:376–84.
- [58] Trabace L, Kendrick KM, Castrignano S, Colaianna M, De Giorgi A, Schiavone S, et al. Soluble amyloid beta_{1–42} reduces dopamine levels in rat prefrontal cortex: relationship to nitric oxide. *Neuroscience* 2007;147:652–63.

- [59] West AR, Galloway MP, Grace AA. Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: effector pathways and signalling mechanisms. *Synapse* 2002;44: 227–45.
- [60] Salum C, Guimaraes FS, Brandao ML, Del Bel EA. Dopamine and nitric oxide interaction on the modulation of PPI of the acoustic startle response in the Wistar rat. *Psycho-pharmacology* 2006;185:133–41.
- [61] Klamer D, Palsson E, Revesz E, Engel JA, Svensson L. Habituation of acoustic startle is disrupted by psychotomimetic drugs: differential dependence on dopaminergic and nitric oxide modulatory mechanisms. *Psychopharmacology* 2004;176: 440–50.
- [62] Bianchi G, Landi M, Garattini S. Disposition of apomorphine in rat brain areas: relationship to stereotypy. *Eur J Pharmacol* 1986;131:229–36.
- [63] Dolan RJ, Fletcher P, Frith CD, Friston KJ, Frackowiak RSJ, Grasby PJ. *Nature* 1995;378:180–3.
- [64] Ichihara K, Nabeshima T, Kameyama T. Opposite effects induced by low and high doses of apomorphine on single-trial passive avoidance learning in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;30:107–13.
- [65] Sigala S, Missale C, Spano PF. Opposite effects of dopamine D2 and D3 receptors on learning and memory in the rat. *Eur J Pharmacol* 1997;336:107–12.
- [66] White NM, Packard MG, Seamans J. Memory enhancement by post-training peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect. *Behav Neural Biol* 1993;59:230–41.
- [67] Chrobak JJ, Napier TC. Delayed-non-match-to-sample- performance in the radial arm maze: effects of dopaminergic and gabaergic agents. *Psychopharmacology* 1992;108:72–8.

- [68] Friston KJ, Grasby PM, Bench CJ, Frith CD, Cowen PJ, Liddle PF, et al. Measuring the neuromodulatory effects of drugs in men with positron emission tomography. *Neurosci Lett* 1992;141:106–10.
- [69] Fletcher PC, Frith CD, Grasby PM, Friston KJ, Dolan RJ. Local and distributed effects of apomorphine on fronto-temporal function in acute unmedicated schizophrenia. *J Neurosci* 1996;16:7055–62.
- [70] Picada JN, Schroeder N, Izquierdo I, Henriques JAP, Roesler R. Differential neuro-behavioral effects induced by apomorphine and the oxidation product, 8-oxo-apomorphine-semiquinone in rats. *Eur J Pharmacol* 2002;443:105–11.
- [71] Shannon HE, Love PL. Within-session repeated acquisition behavior in rats as a potential model of executive function. *Eur J Pharmacol* 2004;498:125–34.
- [72] Schellekens AFA, Grootens KP, Neef C, Moving KLL, Buitelaar JK, Ellenbroek B, et al. Effect of apomorphine on cognitive performance and sensorimotor gating in humans. *Psychopharmacology* 2010;207:559–69.
- [73] Edwards J, Jackson HJ, Pattison PE. Emotion recognition via facial expression and affective prosody in schizophrenia: a methodological review. *Clin Psychol Rev* 2002;22:789–832.
- [74] Calev A, Venables PH, Monk AF. Evidence for distinct verbal memory pathologies in severely and mildly disturbed schizophrenics. *Schizophr Bull* 1983;9:247–64.
- [75] Montoya A, Lal S, Menear M, Duplessis E, Thavundayil J, Schmitz N, et al. Apomorphine effects on episodic memory in young healthy volunteers. *Neuropsychologia* 2008;46:292–300.
- [76] Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats: 1. Behavioral data. *Behav Brain Res* 1988;31:47–59.

- [77] Cavoy A, Delacour J. Spatial but not object recognition is impaired by aging in rats. *Physiol Behav* 1993;53:527–30.
- [78] De Lima MNM, Presti-Torres J, Dornelles A, Scalco SF, Roesler R, Garcia VA, et al. Modulatory influence of dopamine receptors on consolidation of object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem* 2011;95:305–10.
- [79] IngramDK, Spangler EL, Meyer RC, London ED. Learning in a 14-unit T-maze is impaired in rats following systemic treatment with N-nitro-L-arginine. *Eur J Pharmacol* 1998;341:1–9.
- [80] Boultadakis A, Georgiadou G, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on different memory components as assessed in the object recognition task in the rat. *Behav Brain Res* 2010;207:208–14.
- [81] Diaz R, Fuxe K, Ogren SO. Prenatal corticosterone treatment induces long-term changes in spontaneous and apomorphine mediated motor activity in male and female rats. *Neuroscience* 1997;81:129–40.
- [82] Moller H-G, Nowak K, Kuschinsky K. Conditioning of pre- and post-synaptic behavioural responses to the dopamine receptor agonist apomorphine in rats. *Psychopharmacology* 1987;91:50–5.
- [83] Bartolini L, Casamenti F, Pepeu G. Aniracetam restores object recognition impaired by age, scopolamine and nucleus basalis lesions. *Pharmacol Biochem Behav* 1996;53:277–83
- [84] Bianchi G, Landi M, Garattini S. Disposition of apomorphine in rat brain areas: relationship to stereotypy. *Eur J Pharmacol* 1986;131:229–
- [85] Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions. *Progr Brain Res* 1990;85:119–46.

- [86] Setlow B. The nucleus accumbens and learning in memory. *J Neurosci Res* 1997;49:515–21
- [87] Sargolini F, Roullet P, Oliverio A, Mele A. Effects of intra-accumbens focal administration of glutamate antagonists on object recognition memory in mice. *Behav Brain Res* 2003;138:153–63.
- [88] Coccarello R, Oliverio A, Mele A. Dopamine-glutamate interplay in the ventral striatum modulates spatial learning in a receptor subtype-dependent manner. *Neuropsychopharmacology* 2012;37:1122–33.
- [89] Yamada K, Noda Y, Hasegawa T, Komori Y, Nikai T, Sugihara H, et al. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276:460–6.
- [90] Wass C, Archer T, Palsson E, Fejgin K, Klamer D, Engel JA, et al. Effects of phencyclidine on spatial learning and memory: nitric oxide-dependent mechanisms. *Behav Brain Res* 2006;171:147–53.
- [91] Fejgin K, Palsson E, Wass C, Svensson L, Klamer D. Nitric oxide signaling in the medial prefrontal cortex is involved in the biochemical and behavioral effects of phencyclidine. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:1874–83.
- [92] Bird DC, Bujas-Bobanovic M, Robertson HA, Dursum SM. Lack of phencyclidine-induced effects in mice with reduced neuronal nitric oxide synthase. *Psychopharmacology* 2001;155:299–309
- [93] Johansson C, Jackson DM, Svensson L. Nitric oxide synthase inhibition blocks phencyclidine-induced behavioural effects on prepulse inhibition and locomotor activity in the rat. *Psychopharmacology* 1997;131:167–73.

- [94] Wiley JL. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition. *Neuropsychopharmacology* 1998;19:86–94.
- [95] Hoque KE, Indorkar RP, Sammut S, West AR. Impact of dopamine–glutamate interactions on striatal neuronal nitric oxide synthase activity. *Psychopharmacology* 2010;207:571–81.
- [96] Xu TX, Sotnikova TD, Liang C, Zhang J, Jung JU, Spealman RD, et al. Hyperdopaminergic tone erodes prefrontal long-term potential via a D2 receptor-operated protein phosphatase gate. *J Neurosci* 2009;29:14086–99.
- [97] Sammut S, Bray KE, West AR. Dopamine D2 receptor-dependent modulation of striatal NO synthesis activity. *Psychopharmacology* 2007;191:793–803.
- [98] Biggio G, Costa E, Guidotti A. Pharmacologically-induced changes in the 3'-5'-cyclic guanosine monophosphate content of rat cerebellar cortex: differences between apomorphine, haloperidol and harmaline. *J Pharmacol Exp Ther* 1977;200: 207–15.
- [99] Forestiero D, Manfrim CM, Guimaraes FS, de Oliveira RM. Anxiolytic-like effects induced by the nitric oxide inhibitors microinjected into the medial amygdale of rats. *Psychopharmacology* 2006;184:166–72.
- [100] Li S, Quock RM. Effects of a nitric oxide donor on behaviour and interaction with nitrous oxide in the mouse light/dark exploration test. *Eur J Pharmacol* 2002;447: 75–8.
- [101] Vale AL, Green S, Montgomery AM, Shafi S. The nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME produces anxiogenic-like effects in the rat elevated plus maze test, but not in the social interaction test. *J Psychopharmacol* 1998;12:268–72.

- [102] Robbins TW. Critique of the methods available for the measurement of spontaneous motor activity. In: Iversen SD, Iversen LL, Snyder SH, editors. Handbook of psycho-pharmacology. New York: Plenum Press; 1977.
- [103] Dere E, Huston JP, De Souza Silva . The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31:673–704.
- [104] Varner PD, Beckman JS. Nitric oxide toxicity in neuronal injury and degeneration. In: Vincent S, editor. Nitric oxide in the nervous system. San Diego: Academic Press;1999. p. 43–50.
- [105] Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and vivo. *Br J Pharmacol* 1990;101:746–52.
- [106] Moore PK, Babbedge RC, Wallace P, Gaffen ZA, Hart SL. 7-Nitroindazole, an inhibitor of the nitric oxide synthase, exhibits anti-nociceptive activity in the mouse without increasing blood pressure. *Br J Pharmacol* 1993;108:296–7.