



UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI

FACULTATEA DE BIOLOGIE

ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE

**EFFECTUL UNOR DIVERSE ANTIPSIHOTICE TIPICE SAU ATIPICE
ASUPRA FUNCȚIILOR COGNITIVE ÎN SCHIZOFRENIE – STUDII PE
PEȘTI ZEBRĂ ȘI PACIENȚI UMANI**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

CS I DR. HABIL CIOBÎCĂ ALIN STELIAN

Student-doctorand:

LUNGU PETRU-FABIAN

IAȘI

2026

CUPRINS

CUPRINS	2
LISTĂ DE ABREVIERI	5
CAPITOLUL I. STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR ÎN DOMENIU	9
1.1 Noțiuni generale despre schizofrenie	9
1.2 Metacogniția în schizofrenie.....	11
4. Peștele zebură ca model animal pentru schizofrenie	11
3.1. Teste de cogniție pe peștii zebură	15
3.1.1 Testul cu obiect nou în acvariu	15
3.1.2 Testul labirintului în cruce	15
3.1.3 Testul de preferință socială.....	15
3.2 Studiul 1	16
3.2.1 Mini Mental State Examination (MMSE).....	16
3.2.2 Montreal Cognitive Assessment (MoCA).....	16
3.2.3 Chestionarul Metacognitiv-30 (MCQ-30).....	17
3.3 Studiul 2	17
3.3.1 Administrarea de ketamină	18
3.3.2 Testul labirintului T	18
3.3.3 Testul de preferință socială	18
3.3.4 Testul cu obiect nou în acvariu	18
3.4 Studiul 3	19
3.4.1 Administrarea de substanțe	19
3.4.2 Testul cu obiect nou în mediu (NOR).....	19
3.4.3 Testul labirintului T	20
3.5 Studiul 4	20
3.5.1 Administrarea de substanțe.....	20
3.5.2 Testul labirintului T	21
3.5.3 Testul de preferință socială.....	21

3.5.4 Testul cu obiect nou în mediu	21
CAPITOLUL IV. REZULTATE	22
4.1 Experimentul 1	22
4.1.1 Mini Mental State Examination (MMSE).....	22
4.1.2 Montreal Cognitive Assessment (MoCA).....	22
4.1.3 Chestionarul Metacognitiv-30	23
4.2 Studiul 2	24
4.2.1 Labirintul T pentru teste de memorie	24
4.2.2 Testul cu obiecte noi plutitoare	25
4.2.3 Testul de interacțiune socială.....	26
4.3 Studiul 3	28
4.3.1 Testul T pentru memorie	28
4.3.2. Test de recunoaștere a obiectelor noi.....	29
4.3.3 Testul de interacțiune socială.....	29
4.4 Studiul 4	30
4.4.1 Labirintul T pentru teste de memorie	30
4.4.2 Testul cu obiect nou în mediu	31
4.4.3 Testul de preferință social.....	32
CAPITOLUL V DISCUȚII.....	34
5.1 Experiment 1.....	34
5.1.1 MMSE & MoCA.....	34
5.1.2 Chestionarul Metacognitiv-30 (MCQ-30).....	34
5.2 Studiul 2	35
5.2.1 Testul T pentru memorie	35
5.2.2 Testul cu obiecte noi în mediu.....	35
5.2.3 Testul de preferință socială.....	36
5.3 Studiul 3	36
5.3.1 Testul T pentru memorie	36
5.3.2 Testul cu obiect nou în acvariu	37

5.3.3 Testul de interacțiune socială.....	37
5.4 Studiul 4.....	38
5.4.1 Testul T pentru memorie	38
5.4.2 Testul cu obiect nou în acvariu	38
5.4.3 Testul de interacțiune socială.....	39
CAPITOLUL VI CONCLUZII FINALE ASUPRA TEZEI	40

LISTĂ DE ABREVIERI

ADG - Antipsihotice de a doua generație

APG - Antipsihotice de prima generație

AVLT – Auditory Verbal Learning Test (Testul de învățare verbală auditivă)

BACS - Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (Evaluarea Scurtă a Cognitionii în Schizofrenie)

BPRS - Brief Psychiatric Rating Scale (Scala Scurtă de Evaluare Psihiatrică)

BVMT-R - Brief Visuospatial Memory Test–Revised (Testul Scurt de Evaluare a Memoriei Vizuospațiale)

CGI-S – Clinical Global Impressions Scale (Scala de Impresii Globale Clinice)

CLO+AMI – Clozapină și Amisulpridă

CLZ – Clozapină

CPT - Continuous Performance Test (Testul de Performanță Continuă)

CPT-IP - Continuous Performance Test - Identical Pairs (Testul de performanță continuă – perechi identice)

CTR – Control

DIEPSS - Scala de simptome extrapiramidale induse de medicamente

DRT - Delayed Response Task

DSM-IV - Manualul de diagnostic și statistică al tulburărilor mintale, ediția a 4-a

DST - Testul simbolului cifrelor

EMS- Eroare medie standard

GABA - Gamma-Amino Butiric Acid

GAF – Testul de evaluarea globală a funcționării

HAL – Haloperidol

HVLT-R - Hopkins Verbal Learning-Revised

ICD-10 - Clasificarea Internațională a Bolilor, Revizia a 10-a

KET – Ketamină

LNS - Letter–Number Sequencing (ordonarea numerelor/literelor)

MCCB - MATRICS Consensus Cognitive Battery

MCI - Deficiențe cognitive ușoare (medium cognitive impairment)

MCQ-30 - MetaCognitive Questionnaire-30 (chestionar de evaluare metacognitivă)

MET – Metionină

MMSE - Mini Mental State Examination (test de evaluare cognitivă)

MoCA - Montreal Cognitive Assessment (test de evaluare cognitivă)

MOT – Monoterapie

MSCEIT - Mayer–Salovey–Caruso Emotional Intelligence Test (Testul de inteligență emoțională Mayer–Salovey–Caruso)

NDMC - N-desmetilclozapină

NMDA - N-metil-D-aspartate

NOR – Novel Object Recognition (Testul cu obiect nou în acvariu)

OLA – Olanzapină

PANSS – Positive and Negative Syndrome Scale (Scala Sindromului Pozitiv și Negativ)

PIT – Politratment

PTSD – Post-traumatic stress disorder (stres post-traumatic)

RBANS - Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status (test pentru evaluarea stării neuropsihologice)

RIS – Risperidonă

RIS+ARI/QUE – Risperidonă și Aripiprazol sau Quetiapină

ROCF - Rey-Osterricht Complex Figure (testul neuropsihologic Rey-Osterricht)

RTC - Rezistență la tratamentul cu clozapină

RWT - Regensburger Wortfluessigkeitstest

SAM - S-adenozilmetioninei

SCZ – Schizofrenie

SF-36 - Short Form Survey-36Fr

SOPT - Sarcina de indicare ordonată subiecților

TCC - Terapie cognitiv-comportamentală

TESS – Treatment Emergent Symptom Scale (Scala pentru efecte adverse/simptome generate de tratament)

TMT – Trail Making Test (Testul de realizare a traseului, partea A și B)

TOC – Tulburare obsesiv-convulsivă

UKU – Scala pentru efecte secundare

VLMT - Verbal Learning and Memory Test (test de evaluare al memoriei)

VLNOR – Visual Lateralization Novel Object Recognition (Testul cu obiect nou în acvariu - lateralizare vizuală)

VTA - ventral tegmental area (aria tegmentală ventrală)

WMS-III - Weschler Memory Scale (ediția a-III-a)

Schizofrenie; Antipsihotice; Pește zebra; Cognitione; Metacognitione; Pacienți; Memorie; Socială; Testul cu obiect nou în acvariu; Ketamină; Metionină; Test T; Preferință socială; Clozapină; Amisulpridă; Haloperidol; Risperidonă; Olanzapină; MMSE; MoCA; MCQ-30; PANSS.

CAPITOLUL I. STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR ÎN DOMENIU

1.1 Noțiuni generale despre schizofrenie

Schizofrenia reprezintă o afecțiune psihică majoră caracterizată prin alterarea severă și constantă a calității vieții unei persoane. Etiologia bolii este complicată și incomplet elucidată, iar manifestările diferă notabil de la individ la individ [1]. Tulburările din spectrul schizofreniei se deosebesc de alte tulburări prin deficite cognitive și perceptuale de bază și consistente, precum și prin aplatizare afectivă, avoliție și retragere socială. Cu toate că anumite deficite cognitive pot apărea în timp, conștiința proprie și capacitatea intelectuală sunt păstrate frecvent de pacienți [2].

Schizofrenia este caracterizată de simptome precum idei delirante, halucinații, tulburări ale gândirii și deficite cognitive. Schizofrenia afectează anumite procese cognitive de bază, cum ar fi percepția, emoția și judecata. Datele susțin în mod tot mai convingător noțiunea că schizofrenia este o tulburare subtilă a dezvoltării și a neuroplasticității [1].

Gândirea dezorganizată (tulburarea formală a gândirii) este evaluată în principal pe baza discursului individului. Aceasta se poate manifesta prin trecerea frecventă de la un subiect la altul (deraiere sau pierderea asociațiilor), iar răspunsurile pot fi doar vag legate sau complet fără legătură cu întrebările adresate (tangentialitate). În cazuri mai rare, discursul poate deveni atât de dezorganizat încât devine aproape imposibil de înțeles, asemănându-se cu afazia de recepție prin incoerență extremă („salată de cuvinte”). Totuși, deoarece forme ușoare de dezorganizare a vorbirii sunt relativ frecvente și nespecifice, acest simptom trebuie să fie suficient de sever pentru a afecta semnificativ comunicarea. Aprecierea severității poate fi dificilă, mai ales atunci când evaluatorul și persoana evaluată au fundaluri lingvistice diferite. De asemenea, în fazele prodromală și reziduală ale schizofreniei, gândirea și vorbirea pot prezenta un grad mai redus de dezorganizare [3].

Disfuncțiile memoriei de lucru, atenției, vitezei de procesare, învățării vizuale și verbale cu deficit substanțial în raționament, planificare, gândire abstractă și rezolvare de probleme au fost documentate pe larg în schizofrenie. Conform unor estimări, aproape 98% dintre pacienții care suferă de schizofrenie au astfel de deficiențe și nu îndeplinesc funcția cognitivă prezisă, bazată pe inteligența premorbidă și pe nivelurile de educație parentală. Profilul de deteriorare neurocognitivă al pacienților cu schizofrenie descrie perturbarea de bază a circuitelor cortico-cerebelo-talamico-corticale. Un studiu retrospectiv de amploare a arătat că deficitele cognitive se numără printre primele semne la indivizii care au fost diagnosticați ulterior cu schizofrenie [4]. Deficiențe cognitive, prin urmare, denotă un marker de trăsătură pentru schizofrenie. În plus, dovezile deficiențelor cognitive atât în faza prodromală, cât și pe parcursul cursului schizofreniei, justifică includerea declinului cognitiv ca element central al acestei boli. Se evidențiază o corelație semnificativă între rezultatul funcțional al deficitelor și cel al angajării, vieții independente, cunoașterii și funcționării sociale și comunitare. Deficitele cognitive sunt proeminente în ciuda stabilității clinice la pacienții cu schizofrenie și probabil asociate dizabilității [4].

Simptomele psihotice din schizofrenie apar, de regulă, între sfârșitul adolescenței și mijlocul decadei a patra de viață, debutul înainte de adolescență fiind rar. În mod tipic, primul episod psihotic survine la începutul până la mijlocul celei de-a treia decade la bărbați și spre finalul aceleiași perioade la femei.

Debutul poate fi fie brusc, fie gradual, însă în majoritatea cazurilor manifestările clinice semnificative se instalează lent și progresiv [3]. În evaluarea clinică a schizofreniei trebuie luate în considerare simptomele pozitive, simptomele negative și psihopatologia generală [3].

Simptomele pozitive sunt de obicei reprezentate de următoarele:

- halucinații (cel mai frecvent auditive);
- gândire și vorbire dezorganizate;
- agitație psihomotorie și idei delirante.

Simptomele negative sunt reprezentate în special de următoarele:

- apatie afectivă;
- retragere socială;
- gândire stereotipă;
- anhedonie, avoliție și dificultăți de gândire abstractă.

În ceea ce privește psihopatologia generală, clinicienii și psihiatrii trebuie să caute simptome precum preocuparea somatică, anxietatea, depresia, ideile de vinovăție, precum și deficitul cognitive (inclusiv, dar fără a se limita la gândire nefirească, dezorientare, deficit de atenție, control slab al impulsurilor și anosognozia) [3].

Factorii de mediu, precum anotimpul nașterii, au fost corelați cu riscul de apariție a schizofreniei, incidența fiind mai crescută la persoanele născute la sfârșitul iernii sau începutul primăverii în anumite regiuni, iar nașterile din perioada verii fiind asociate cu forme deficitare ale bolii. De asemenea, riscul este mai mare la indivizii crescuți în mediul urban și în cadrul unor grupuri etnice minoritare [3].

Factorii genetici au o contribuție semnificativă la vulnerabilitatea pentru schizofrenie, chiar dacă majoritatea persoanelor diagnosticate nu au antecedente familiale de psihoză. Riscul este determinat de prezența unui număr mare de alele, fie frecvente, fie rare, fiecare având un efect redus, dar cumulativ, asupra predispoziției generale. Multe dintre aceste variante genetice sunt implicate și în alte tulburări psihice, precum tulburarea bipolară, depresia și tulburările din spectrul autismului [3].

Antipsihoticele de prima generație (APG), denumite în mod obișnuit „antipsihotice tipice”, au fost dezvoltate pentru prima dată în anii 1950. ADG, adesea numite „antipsihotice atipice” sau antipsihotice de a doua generație, au devenit disponibile în cursul anilor 1980. În ceea ce privește mecanismul lor de acțiune, antipsihoticele de prima generație funcționează prin inhibarea neurotransmisiei dopaminergice (cu mențiunea că sunt cele mai eficiente atunci când blochează aproximativ 72% din receptorii dopaminergici D2 ai creierului), precum și activitatea colinergică, noradrenergică și histaminergică.

Antipsihoticele de a doua generație acționează prin blocarea receptorilor dopaminergici D2, precum și a acțiunii antagoniste a receptorilor serotonininei, cel mai frecvent implicat fiind subtipul 5-HT_{2A} [5]. Deși antipsihoticele atipice (inclusiv paliperidona, ziprasidona și lurasidona) au arătat anumite beneficii cognitive, dozele mari de antipsihotice sunt asociate cu o serie de deficite cognitive la pacienții cu schizofrenie [6–9]. Există dovezi că

medicamentele antipsihotice de primă generație generează efecte secundare extrapiramidale, cum ar fi acatizia, distonia, parkinsonismul și diskinezia tardivă [10,11]. În ciuda faptului că antipsihoticele de a doua generație (ADG) au înlocuit din ce în ce mai mult antipsihoticele de primă generație (APG) în țările industrializate, primele sunt încă cele mai des prescrise medicamente în multe alte regiuni ale lumii, în special în țările sărace unde sunt semnificativ mai accesibile [10,11].

Tratamentul simptomatic disponibil are succes doar parțial. Antipsihoticele sau neurolepticele sunt un grup de medicamente utilizate în tratamentul unor boli psihiatrice grave. În studiul realizat de Goldberg și colab., participanții selectați să primească olanzapină și risperidonă nu au prezentat diferențe în ceea ce privește măsura cognitivă la început de studiu, atât în datele inițiale cu efecte nesemnificative ale grupului cu medicamente, cât și în analiza *post-hoc* a diferențelor dintre grupuri la momentul de debut [12]. În studiul realizat de Cuesta și colab., la pacienții care suferă de schizofrenie cronică, medicamentul antipsihotic atipic a fost asociat cu ușoare îmbunătățiri diferențiale în timp ale atenției, memoriei verbale și ale funcțiilor executive în comparație cu medicamentele neuroleptice tipice. Nu s-au găsit îmbunătățiri diferențiale în funcționarea socială, fluenta verbală, domeniile non-verbale ale memoriei sau abilitățile vizual-motorii [13]. Din comparațiile dintre antipsihotice, privind în principal diferențele cognitive la persoanele afectate, au rezultat date limitate și contradictorii.

1.2 Metacogniția în schizofrenie

Metacogniția este gândirea de ordin superior care implică controlul activ al proceselor cognitive implicate în învățare [14]. Cercetările au indicat că multe persoane cu tulburări ale spectrului schizofreniei se confruntă cu deficite metacognitive. Printre acestea se numără deficite în ceea ce privește cogniția socială, memoria de lucru, viteza redusă de procesare, disfuncțiile vizuale și verbale de învățare, dar și deficitele semnificative în raționament, planificare, gândire abstractă și rezolvarea de probleme [15]. Cogniția socială este de asemenea compromisă, adică capacitatea de a încorpora informații în mod adecvat și de a le aplica pentru a dezvolta răspunsuri adecvate în anumite circumstanțe. Deficitele cognitive și funcționarea socială sunt strâns intercorelate, întrucât pacienții cu schizofrenie prezintă deficite metacognitive, ceea ce se reflectă în performanțe mai scăzute la testele care evaluează aceste capacități. Ei au dificultăți în a-și forma idei complexe despre sine și despre ceilalți, prezintă multe tulburări de memorie, nu sunt în general conștienți de starea lor și prezintă o afectare semnificativă a capacității lor cognitive totale. Ținând cont de faptul că metacogniția este importantă pentru învățare și antrenament, investigarea activității metacognitive și a evoluției metacognitive devine o condiție esențială pentru a identifica modul în care indivizii cu boli neurodegenerative ar putea fi învățați să folosească resursele cognitive prin controlul metacognitiv [14,15].

4. Peștele zebra ca model animal pentru schizofrenie

Modelele farmacologice de schizofrenie se bazează, în general, pe trei surse principale de inspirație: modificările neurochimice și moleculare identificate la pacienții cu schizofrenie, proprietățile farmacodinamice ale antipsihoticelor și observația conform căreia anumite substanțe psihotomimetice pot induce stări psihotice la indivizi sănătoși sau pot agrava simptomatologia deja existentă la pacienții diagnosticați cu schizofrenie [16–18]. Utilizarea agenților psihotomimetici în modelarea farmacologică a fost fundamentată în special pe dereglările sistemelor glutamatergic și dopaminergic, precum și pe implicarea altor sisteme de neurotransmisie, în special cele bazate pe

serotonină [19]. Dezechilibrul dintre neurotransmisia excitatorie și cea inhibitorie poate persista pentru perioade îndelungate sau chiar permanent, contribuind la instalarea și menținerea unor modificări neurocomportamentale relevante pentru comportamente schizotipale [20]. Din acest motiv, consecințele expunerii acute, cronice sau timpurii în viață la substanțe psihoactive au fost investigate intens în cadrul modelelor animale [21].

Expunerea la compuși psihotomimetici este adesea combinată cu alte strategii experimentale, cum ar fi leziunile creierului, fie pentru a testa sensibilitatea crescută la astfel de substanțe în adolescență, fie pentru a consolida validitatea de construct a modelului utilizat [22]. În acest context, peștele-zebră reprezintă un model experimental valoros, deoarece posedă toate sistemele majore de neurotransmițători și neuromodulatori întâlnite la mamifere, ceea ce permite dezvoltarea unor modele farmacologice relevante. Cu toate acestea, datorită diferențelor de morfologie cerebrală dintre peștele-zebră și mamifere, trebuie luate în considerare și anumite particularități ale organizării sistemelor de neurotransmițători [23]. Administrarea substanțelor farmacologice poate fi realizată la rozătoare, dar și la peștele-zebră, prin injecții intraperitoneale, intramusculare sau subcutanate. În plus, în cazul peștelui-zebră, substanțele pot fi administrate și neinvaziv, prin dizolvarea lor în apa din acvariul experimental, metodă care reprezintă un avantaj important din punct de vedere practic și metodologic [24].

CAPITOLUL II. Ipoteza de cercetare și obiectivele lucrării

Ipoteza generală de cercetare a fost aceea că diferitele clase de antipsihotice influențează în mod diferențiat funcțiile cognitive implicate în schizofrenie, iar aceste efecte pot fi evidențiate atât clinic, prin instrumente standardizate de evaluare cognitivă, cât și experimental, prin paradigme comportamentale validate pe model animal. Totodată, s-a presupus că profilul farmacodinamic al fiecărui compus antipsihotic modulează distinct procese precum memoria, explorarea, procesarea noutății și comportamentul social, în funcție de mecanismele neurobiologice implicate și de modelul farmacologic utilizat pentru inducerea caracteristicilor de schizofrenie.

Pentru verificarea acestei ipoteze generale, au fost urmărite o serie de obiective principale și secundare, structurate în concordanță cu cele patru studii incluse în teză.

- **Obiectiv principal 1:** Evaluarea influenței tratamentului antipsihotic asupra funcțiilor cognitive și metacognitive la pacienții umani diagnosticați cu schizofrenie, prin compararea administrării antipsihoticelor în mod monoterapeutic contra polifarmaceutic.
 - **Obiectiv secundar 1:** Analizarea performanței cognitive globale prin intermediul testelor Mini Mental State Examination (MMSE) și Montreal Cognitive Assessment (MoCA);
 - **Obiectiv secundar 2:** Evaluarea diferențelor dintre grupurile de pacienți aflați în monoterapie și polifarmacie în domenii precum orientarea, atenția, memoria de scurtă durată, limbajul, gândirea abstractă și funcțiile executive;
 - **Obiectiv secundar 3:** Investigarea particularităților metacognitive prin aplicarea Chestionarului Metacognitiv-30 (MCQ-30) cât și identificarea posibilelor relații dintre regimul farmacologic și convingerile metacognitive maladaptative, cu accent pe autoreflexivitate, controlul gândurilor și rolul îngrijorării în menținerea suferinței psihice.
- **Obiectiv principal 2:** Investigarea efectelor haloperidolului și risperidonei asupra memoriei, învățării și comportamentului explorator într-un model experimental de schizofrenie indus prin ketamină la pește zebra adult.
 - **Obiectiv secundar 1:** Evaluarea impactului expunerii la ketamină asupra comportamentului locomotor și a funcțiilor cognitive în testele comportamentale specifice;
 - **Obiectiv secundar 2:** Compararea efectelor unui antipsihotic tipic și ale unui antipsihotic atipic asupra performanței în sarcini de memorie și învățare;
 - **Obiectiv secundar 3:** Analizarea comportamentului în testul cu obiect nou, în sarcina de preferință socială, în paradigmele de memorie spațială și în aprecierea valorii modelului *Danio rerio* pentru investigarea efectelor farmacologice asupra cogniției în schizofrenie.

- **Obiectiv principal 3:** Analizarea efectelor amisulpridei și ale clozapinei administrate la două doze diferite asupra memoriei, explorării și comportamentului social într-un model schizofreniform indus prin metionină la pește-zebră.
 - **Obiectiv secundar 1:** Evaluarea efectelor metioninei asupra procesării noutății, flexibilității cognitive și interacțiunii sociale;
 - **Obiectiv secundar 2:** Investigarea efectelor amisulpridei și clozapinei asupra parametrilor locomotori, motivaționali și cognitivi în contextul expunerii la metionină, analizarea comportamentului în testul T pentru memorie, testul cu obiect nou în acvariu și testul de preferință socială;
 - **Obiectiv principal 4:** Compararea efectelor amisulpridei cu cele ale clozapinei administrate în două doze distincte, pentru a identifica eventuale diferențe dependente de mecanismul farmacologic și de doză;



CAPITOLUL III. METODOLOGIA CERCETĂRII

3.1. Teste de cogniție pe peștii zebra

3.1.1 Testul cu obiect nou în acvariu

Învățarea și memoria afectate sunt simptome comune ale bolilor neurodegenerative și neuropsihiatrice. În prezent, există mai multe teste comportamentale folosite pentru a evalua funcțiile cognitive la modelele animale, inclusiv testul de recunoaștere a obiectelor noi (NOR) folosit destul de frecvent. Testul NOR este considerat în literatura de specialitate a reflecta unele aspecte ale memoriei declarative umane, iar natura universală a testului îl face similar în anumite privințe cu testele de memorie folosite pentru oameni [25]. Cu toate acestea, puține modele animale fac posibilă studierea mecanismelor implicate în învățare și memorie în relație cu asimetria creierului [26]. Acest test poate fi realizat într-un timp foarte scurt pentru ca animalele să nu se simtă stresate și oferă informații valoroase despre capacitatea de recunoaștere după doar o singură testare, ceea ce îi conferă un avantaj în fața altor metode de evaluare a memoriei [25].

3.1.2 Testul labirintului în cruce

Obișnuirea peștelui zebra la labirint fără măneci colorate va fi efectuată așa cum este descris în literatură înainte de începerea testării. Antrenamentul va fi efectuat timp de șase zile consecutive prin hrănirea lor zilnică în brațul drept. În ziua de test, fiecare pește va fi plasat în cutia de început timp de 30 de secunde și despărțitorul va fi ridicat și apoi pus înapoi după ieșirea peștilor din zona de început. Odată ce peștele a intrat în oricare dintre brațele scurte ale labirintului în T, un alt despărțitor va fi închis pentru a împiedica peștii să intre din nou în brațul lung. Peștii vor fi apoi observați timp de 4 minute. Se vor înregistra numărul de intrări în fiecare braț colorat și zonă deschisă din mijloc (compartment incolor, „blank”), timpul petrecut în fiecare zonă și prima preferință de intrare [27].

3.1.3 Testul de preferință socială

Preferința socială poate fi definită ca predilecția indivizilor de a trăi în banc cu ceilalți pești [28]. La peștele-zebră, acest comportament social este evaluat prin observarea modului în care un individ răspunde la un stimul social sau interacționează cu acesta. Au fost dezvoltate teste de preferință socială pentru peștele-zebră care sunt similare cu cele utilizate la rozătoare [29]. Testele de preferințe sociale sunt compuse din două faze operaționale.

Prima fază este faza de obișnuire, în timpul căreia peștele-zebra testat este lăsat singur într-o cameră a rezervorului de testare pentru a explora noul mediu. A doua este faza de interacțiune, care începe cu introducerea stimulului social constând din unul sau două grupuri reduse de pești zebra. Alternativ, stimulul social poate consta dintr-un videoclip preînregistrat cu pești vii afișat pe un monitor de computer, imagini animate de computer (în mișcare) ale peștilor zebra [30] sau sisteme de realitate virtuală [31]. Pentru a testa comportamentul social față de un singur stimul, se poate folosi un rezervor de formă dreptunghiulară; acesta este împărțit în două camere cu o barieră transparentă care permite contactul vizual între peștele testat și banc. Pentru a testa simultan preferința pentru unul din

cei doi stimuli sociali, se recomandă a se folosi un rezervor dreptunghiular împărțit în trei camere (Fig. 3.2). Alternativ, poate fi folosit un labirint în T, adaptat în același scop; în acest caz, ușile despărțitorului sunt folosite pentru a sigila secțiunea orizontală a labirintului, care este apoi împărțită în trei camere (Fig. 3.3). Labirintul T este un aparat de laborator folosit în mod obișnuit pentru a testa abilitățile cognitive la rozătoare [32,33].

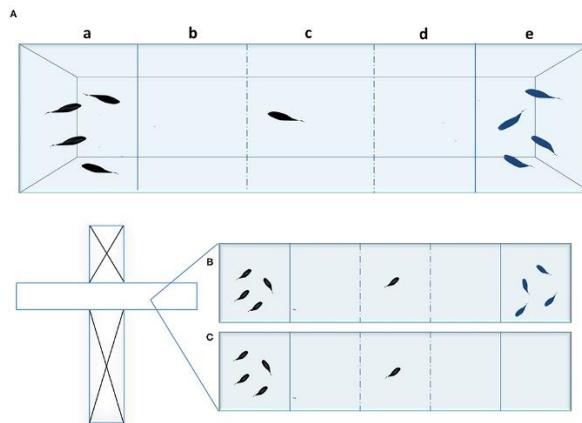


Figura 3.2 și 3.3. Test de preferință socială utilizând labirint în cruce [33]

3.2 Studiul 1

3.2.1 Mini Mental State Examination (MMSE)

Folstein et al., 1975[34] au creat inițial MMSE pentru a diferenția pacienții psihiatrice de cei sănătoși. Ei au declarat în mod explicit că scorurile MMSE au fost „utile în estimarea cantitativă a celor șaptezeci de tulburări cognitive” și „în documentarea în serie a schimbărilor cognitive”. MMSE nu a fost, în sine, conceput să ofere un diagnostic pentru o anumită tulburare. MMSE conține diferite întrebări și sarcini, scorul maxim e de 30 de puncte și de regulă administrarea durează între 10-15 minute. Întrebările sunt grupate în șapte categorii, fiecare reprezentând un domeniu/funcție cognitivă diferită: orientare temporală (5 puncte); orientare spațială (5 puncte); memorarea a trei cuvinte auzite (3 puncte); atenție și calcul (5 puncte); reamintirea a trei cuvinte (3 puncte); limbajul (8 puncte) și reproducerea unui desen (1 punct) [35].

3.2.2 Montreal Cognitive Assessment (MoCA)

Montreal Cognitive Assessment (MoCA) a fost dezvoltat de Dr. Ziad Nasreddine în Montreal, Canada în 1995 pentru detectarea deficiențelor cognitive ușoare (MCI) de către experții din domeniul sănătății. MCI (mild cognitive impairment) este un sindrom definit ca declin cognitiv mai mare decât era de așteptat pentru vârsta și nivelul de educație al unui individ, dar care nu interferează în mod constant cu activitățile vieții de zi cu zi [36]. Prevalența MCI în studiile epidemiologice pe populație variază de la 3 la 19% la adulții cu vârsta peste 65 de ani și mai mult de jumătate progresează spre demență în decurs de 5 ani. MoCA poate fi util experților din domeniul psihologic și psihiatric pentru detectarea MCI sau a demenței precoce, mai ales pe măsură ce forța de muncă îmbătrânește. Testul, împreună cu instrucțiunile aferente, date normative, referințe, întrebări frecvente și permisiuni cât și actualizări sunt disponibile online, în mod gratuit [37].

Evaluarea constă într-un test compus din întrebări și sarcini care evaluează capacitățile cognitive, cu un scor de maxim 30 de puncte și care poate fi aplicat în 10-15 minute. Un scor de 26 sau mai mare este considerat normal. Un scor mai mic de 25 puncte ar sugera necesitatea unei evaluări de specialitate ulterioare [37]. MoCA evaluează mai multe domenii cognitive: vizuospațial/executiv, numire, memorie, atenție, limbaj, capacitate de abstractizare, reamintirea informației prezentate anterior și orientare temporo-spațială. Multe dintre sarcini sunt similare cu cele din alte teste de evaluare a funcției cognitive.

3.2.3 Chestionarul Metacognitiv-30 (MCQ-30)

Chestionarul de evaluare a metacogniției (MCQ-30) măsoară diferențele individuale într-o selecție de credințe metacognitive, judecăți și tendințe de monitorizare considerate importante în modelul metacognitiv al tulburărilor psihologice. Validitatea de construct a fost demonstrată prin analiză factorială confirmatorie și exploratorie. Analiza factorială exploratorie a versiunii scurte a instrumentului a relevat existența a cinci factori, aproape identici cu factorii inițiali. Cei cinci factori sunt: lipsa încrederii în gândurile proprii, convingeri pozitive despre îngrijorare, auto-conștiința cognitivă, credințe proprii negative asupra gândurilor, incontrolabile și autocontrolul gândurilor. MCQ-30 a arătat o bună consistență internă și validitate convergentă și o bună fidelitate în urma retestării. Corelațiile pozitive dintre acest chestionar și chestionarele care măsoară îngrijorarea au oferit un sprijin suplimentar pentru validitatea convergentă [38–40].

Participanți

Aceștia au fost recrutați din cadrul Institutului de Psihiatrie „Socola” din Iași, pe baza următoarelor criterii de includere și excludere:

Criterii de includere:

- Pacienți în evidență cu diagnosticul de schizofrenie;
- Vârsta cuprinsă între 18 și 65 de ani;
- medicație stabilă în ultimele 3 luni;
- Domiciliu nemodificat în ultimele 3 luni;

Criterii de excludere:

- Prezența altor boli neurologice;
- Idei delirante;
- Abuz de substanțe în ultimele 3 luni;
- Traumatisme craniene în ultimele 3 luni;

3.3 Studiul 2

Modelul animal implicat în studiu (*Danio rerio*)

Pentru aceste experimente au fost utilizați 65 de pești zebra de tip sălbatic. Peștii au fost achiziționați de la un crescător local și au fost tratați conform normelor de tratament impuse la nivel european pentru animalele de laborator, cu aprobare din partea comisiilor de etică aferente.

Grupurile experimentale vor fi următoarele:

Grupa 1 – Control (15 pești)

Grupa 2 – Ketamină (15 pești)

Grupa 3 – Ketamină și Risperidonă (15 pești)

Grupa 4 – Ketamină și Haloperidol (15 pești)

3.3.1 Administrarea de ketamină

Expunerea la ketamină s-a făcut la finalul antrenamentului de 5 zile. În zilele de administrare, peștii vor fi scoși din acvariile corespunzătoare și plasați în tuburi de 50 mL soluție de ketamină 0,1% timp de 5 minute. Am ales o concentrație de 0,1% deoarece administrarea concentrației din literatură (0,2%) [41] a avut efect anestezic în faza incipientă. Soluția a fost preparată în ziua de administrare, din ketamină veterinară pentru cabaline, bovine, ovine, caprine, suine, câini și pisici (Institutul Pasteur, România, 1 mL soluție injectabilă = 100 mg ketamină sub formă de clorhidrat). După cele 5 minute de expunere la substanța de lucru, peștii au fost puși din nou în acvariile cu antipsihotice testate [42].

3.3.2 Testul labirintului T

Peștii au fost aclimatizați în aparat prin plasarea unei bariere transparente ce poate fi ridicată, prin îndepărtarea acesteia se permitea mișcarea, dintr-un compartiment în altul. Acest lucru s-a făcut pentru a ne asigura că peștii învață despre existența a două compartimente diferite în aparat. Peștii au fost lăsați să exploreze aparatul timp de cinci minute. Instrumentul utilizat a fost un labirint tip T, pe brațele căruia s-au atașat mâneci de culoare roșie și verde. Testul labirintului în cruce, se realizează prin aclimatizarea acestor grupuri înainte de realizarea tratamentelor pe o perioadă de 7 zile. În care, prima zi vor fi inițial plasați 10 pești zebră care vor fi lăsați în labirint să înoate 30 minute. După care, în următoarele două zile vor fi plasați în bancuri de câte 5 pești zebră tot 30 minute. Iar, în următoarele două zile în serie de câte doi tot o perioadă de 10 minute. Zilele patru și cinci de antrenament constau în antrenament a câte 2 pești timp de 5 minute. Ultimele două zile au fost antrenați câte un subiect timp de 5 minute. În fiecare zi aceștia au avut acces la stimulul stabilit (hrană).

3.3.3 Testul de preferință socială

Testul de preferință socială a fost realizat după modelul lui R. B. Jones et al., 1999, în care aceștia au adaptat un labirint de tip T pentru a deservi preferinței sociale pentru puii de pasăre. Noi am adaptat testul acestora pe peștii zebră. În brațul stâng au fost plasați un număr de trei pești zebră, care au fost închiși ermetic print-un despărțitor transparent. după care din cutia de start a fost lăsat să iasă peștele zebră testat. Acesta a fost testat timp de 5 minute, iar înregistrarea s-a făcut cu ajutorul Etho Vision.

3.3.4 Testul cu obiect nou în acvariu

Protocolul a cuprins o zi de aclimatizare a peștilor, urmat de o zi de antrenament în care peștii au fost expuși la unul dintre obiectele noi timp de 10 minute. În ultima zi ambele obiecte (o minge de aluminiu și o minge colorată de plastic)

au fost plasate în acvariu, iar comportamentul acestora a fost înregistrat și s-a cuantificat numărul de interacțiuni cu obiectul nou. Înregistrarea video a fost utilizată în acest test pentru evaluarea distanței parcurse, vitezei medii, unghiului de virare și vitezei unghiulare. Acești parametri au fost evaluați cu ajutorul programului EthoVision [43].

3.4 Studiul 3

Pentru aceste experiment au fost utilizați 90 de pești zebră de tip sălbatic. Peștii au fost achiziționați de la un crescător local și au fost tratați conform normelor de tratament impuse la nivel european pentru tratamentul animalelor de laborator, cu aprobare din partea comisiilor de etică corespunzătoare.

Grupurile experimentale au fost următoarele:

Grupa 1 – Control (20 pești)

Grupa 2 – Metionină (20 pești)

Grupa 3 – Metionină și Clozapină (30 pești)

Grupa 4 – Metionină și Olanzapină (20 pești)

3.4.1 Administrarea de substanțe

Administrarea de metionină s-a realizat pe o perioadă de 7 zile, prin introducerea metioninei direct în apă, la o concentrație de 4.5 mM, această soluție a fost preparată proaspăt și schimbată zilnic pe durata tratamentului. Această concentrație a fost aleasă deoarece prezintă proprietăți de inducere a unor simptome similare schizofreniei [44]. Ulterior acestei perioade de tratament cu metionină, antipsihoticele au fost preparate în cazul CLZ cu o concentrație de 34 $\mu\text{L/mL}$ [45] iar pentru prima concentrație de OLA a fost de concentrație 0,7 $\mu\text{L/mL}$ respectiv 1,4 $\mu\text{L/mL}$ [46], aceste doze fiind alese din cadrul tratamentelor uzuale aplicate pe om și convertite la masa corporală a peștelui zebră practică larg răspândită în cadrul cercetărilor de acest tip [47], în ziua administrării și utilizate aferent prin plasarea individuală a peștiiilor zebră în 50 ml de soluție cu antipsihotic timp de 5 minute.

3.4.2 Testul cu obiect nou în mediu (NOR)

Protocolul a presupus o zi de aclimatizare a peștilor, urmată de o zi de antrenament în care peștii sunt expuși la unul dintre obiecte timp de 10 minute. În ultima zi obiectele (o minge colorată galben și o minge colorată roșu) vor fi fixate cu ajutorul unor ventuze pe pereții acvariului (figura 3.7), iar comportamentul acestora a fost înregistrat și s-a cuantificat numărul de interacțiuni cu obiectele.

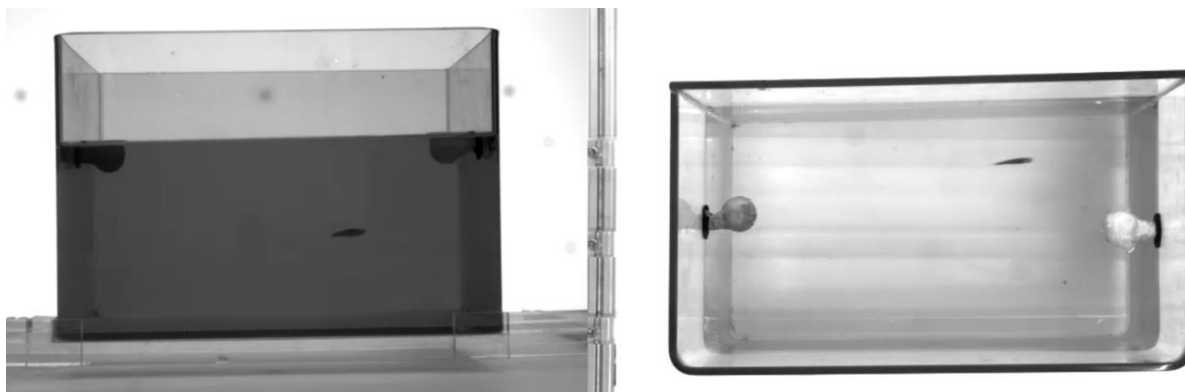


Fig. 3.7 Modalitate de fixare a obiectelor plutitoare în mediu

3.4.3 Testul labirintului T

Testul labirintului în cruce, se realizează prin aclimatizarea acestor grupuri înainte de realizarea tratamentelor pe o perioadă de 7 zile, în care prima zi vor fi inițial 10 pești zebură care vor fi lăsați în labirint timp de 30 minute. În ziua doi și trei în bancuri de câte 5 pești zebură timp de 15 minute. Pentru zilele patru și cinci, în serie de câte doi tot o perioadă de 10 minute. Ziua șase consta în antrenament a câte 2 pești timp de 5 minute, iar ziua șapte s-a testat câte un subiect timp de 5 minute. În fiecare zi aceștia au avut acces la stimulul stabilit (hrană).

3.5 Studiul 4

Modelul animal implicat în studiu (*Danio rerio*)

Pentru aceste experimente au fost utilizați 80 de pești zebură de tip sălbatic. Peștii au fost achiziționați de la un crescător local și vor fi tratați conform normelor de specifice impuse la nivel european pentru tratamentul animalelor de laborator, cu aprobare din parte comisiilor de etică corespunzătoare.

mai multe teste de memorare consecutivă.

Grupurile experimentale vor fi următoarele:

Grupa 1 – Control (20 pești)

Grupa 2 – Metionină (20 pești)

Grupa 3 – Metionină și Amisulprid (20 pești)

Grupa 4 – Metionină și Clozapină (20 pești)

3.5.1 Administrarea de substanțe

Administrarea de metionină s-a realizat pe o perioadă de 7 zile, prin introducerea metioninei direct în apă, la o concentrație de 4.5 mM, această soluție a fost preparată proaspăt și schimbată zilnic pe durata tratamentului. Această concentrație a fost aleasă deoarece prezintă proprietăți de inducere a unor simptome similare schizofreniei [44].

Ulterior acestei perioade de tratament cu metionină, antipsihoticele au fost preparate proaspăt în cazul AMI cu o concentrație de 10 μL /mL doză utilizată în studiul realizat de Leggeri și colab. [48], iar pentru prima concentrație de CLZ a fost de concentrație 17 μL /mL respectiv 34 μL /mL [46], aceste doze fiind alese din cadrul tratamentelor uzuale aplicate pe om și convertite la masa corporală a peștelui zebra practică larg răspândită în cadrul cercetărilor de acest tip [47], în ziua administrării și utilizate aferent prin plasarea individuală a peștilor zebra în 50 ml de soluție cu antipsihotic timp de 5 minute.

3.5.2 Testul labirintului T

Peștii au fost aclimatizați în aparat prin plasarea unei bariere transparente ce poate fi ridicată, prin îndepărtarea acesteia se permitea mișcarea, dintr-un compartiment în altul. Acest lucru s-a făcut pentru a ne asigura că peștii învață despre existența a două compartimente diferite în aparat. Peștii au fost lăsați să exploreze aparatul timp de cinci minute. Instrumentul utilizat a fost un labirint tip T, pe brațele căruia s-au atașat mâneci de culoare roșie și verde.

3.5.3 Testul de preferință socială

Testul de preferință socială a fost realizat după modelul lui R. B. Jones et al., 1999, în care aceștia au adaptat un labirint de tip T pentru a deservi preferinței sociale pentru puii de pasăre. Noi am adaptat testul acestora pe peștii zebra. În brațul stâng au fost plasați un număr de trei pești zebra, care au fost închiși ermetic printr-un despărțitor transparent.

3.5.4 Testul cu obiect nou în mediu

Protocolul a cuprins o zi de aclimatizare a peștilor, urmat de o zi de antrenament în care peștii au fost expuși la unul dintre obiecte timp de 10 minute. În ultima zi ambele obiecte (o minge albastră și o minge colorată galben) au fost plasate în acvariu, iar comportamentul acestora a fost înregistrat și s-a cuantificat numărul de atingeri cu gura. Fixarea mingilor s-a realizat la suprafața apei cu aț

CAPITOLUL IV. REZULTATE

4.1 Experimentul 1

4.1.1 Mini Mental State Examination (MMSE)

În ceea ce privește rezultatele obținute la memoria de scurtă durată (2A) au fost înregistrate diferențe doar între grupul de CTR și celelalte grupe, precum grupa PIT ($p=0.030$) dar și MOT ($p<0.001$). Totuși, nu au fost înregistrate diferențe semnificative statistic între cele două grupe cu antipsihotice. În cazul sarcinii de scriere (2B), grupul PIT a înregistrat diferențe semnificative statistic față de CTR ($p=0.019$). Rezultatele obținute la sarcina de copiat (2C) a arătat diferențe între cele două tipuri de tratamente PIT vs. MOT ($p=0.013$) cât și diferențe între grupul MOT vs. CTR ($p<0.001$) (Fig. 4.2).

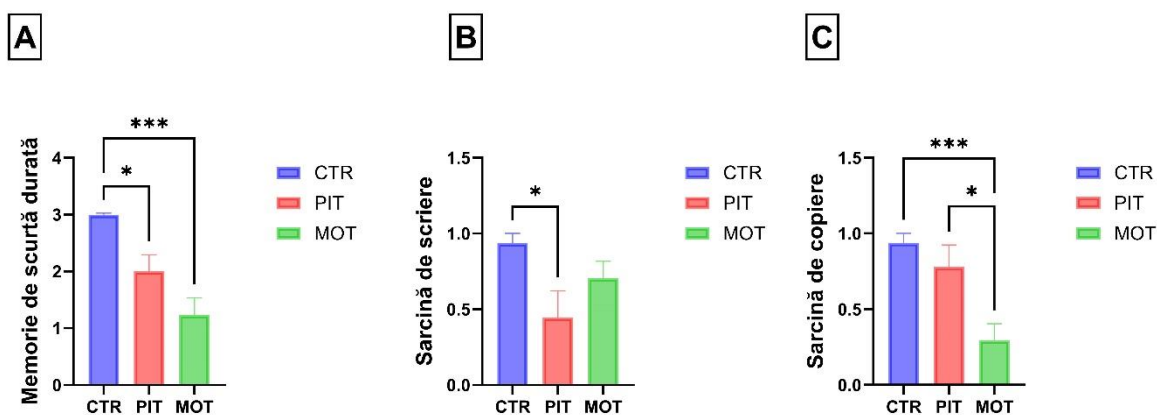


Figura 4.2. Reprezentări grafice pentru rezultate la memorie de scurtă durată (A); Rezultate pentru sarcina de scriere (B); Rezultate sarcină de copiere (C); Datele sunt prezente ca medie $\pm$ EMS în cazul CTR ($n=16$), pentru PIT ($n=9$) și MOT ($n=18$); “*” indică semnificație statistică în situația de $p<0.05$ pentru ANOVA unifactorială.

4.1.2 Montreal Cognitive Assessment (MoCA)

Rezultatele obținute la parametrul de atenție (4A) au fost semnificative în cazul comparațiilor dintre CTR vs. PIT ($p=0.031$) cât și CTR vs. MOT ($p<0.001$). Un alt rezultat semnificativ a fost diferența dintre cele două grupuri de tratament ($p=0.007$). În mod similar cu parametrul anterior, și în cazul sarcinii de desenare (4B), diferențele au fost semnificative între CTR și cele două grupe de tratament ($p<0.001$). Pentru cel de-al treilea parametru prezentat grafic, anume funcția vizuospațial executivă (4C), CTR și PIT au prezentat valori semnificativ mai mari față de MOT ($p<0.001$). În cazul orientării spațiale (4D) au fost înregistrate diferențe între CTR vs. MOT ($p=0.002$). (Fig. 4.4)

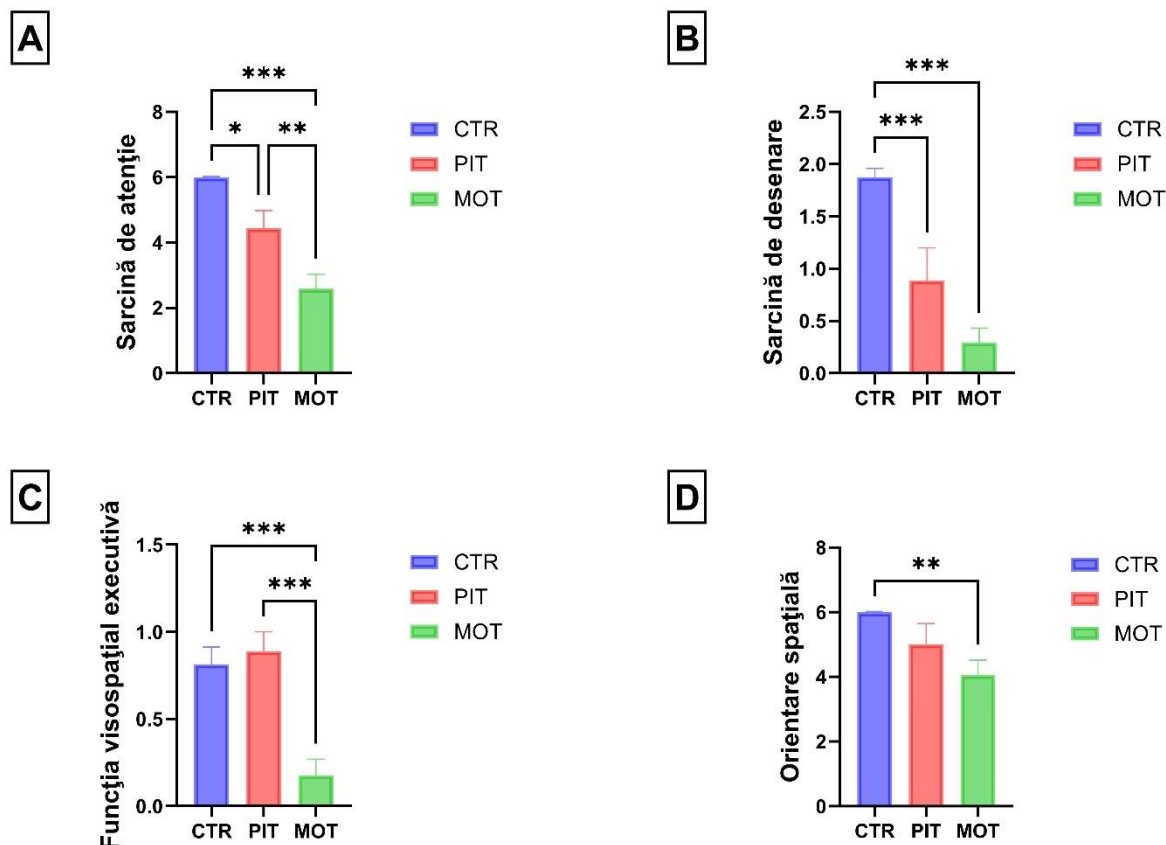


Figura 4.4. Reprezentări grafice pentru sarcina de atenție (A); Rezultate pentru sarcina de desenare (B); Funcția visospațială executivă (C); și Orientare spațială (D); Datele sunt prezentate ca medie $\pm$ EMS în cazul CTR ($n=16$), pentru PIT ($n=9$) și MOT ($n=18$); “***” indică semnificație statistică în situația de $p < 0.05$ pentru ANOVA unifactorială.

4.1.3 Chestionarul Metacognitiv-30

În cazul încrederii (Fig. 6A) și nivelului de conștiință cognitivă (Fig. 6C), au fost observate efecte similare în cazul participanților cu schizofrenie similare cu participanții sănătoși. Totuși, convingerile pozitive asupra îngrijorărilor (Fig. 6B) au fost mai accentuate în cazul persoanelor tratate cu RIS+ARI/QUE față de control ($p = 0.001$) dar și diferențe între grupul tratat CLO+AMI vs. RIS+ARI/QUE ($p = 0.028$) (Fig. 4.6).

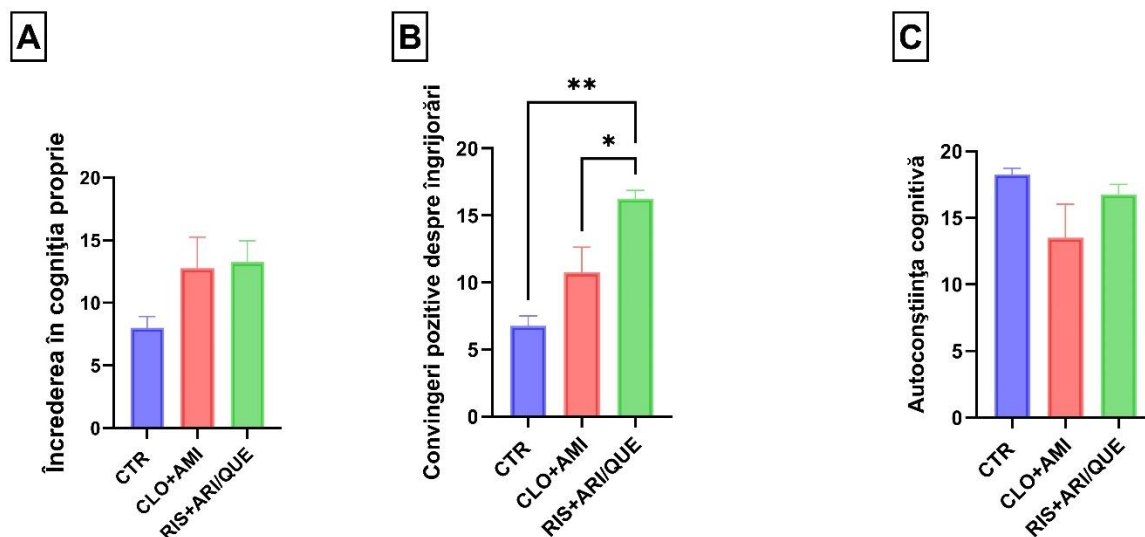


Figura 4.6. Reprezentare grafică pentru scorurile obținute la MCQ-30 pentru subscala încrederea în cogniția proprie (A); Convingeri pozitive asupra îngrijorărilor (B); Autoconștiința cognitivă (C); Datele sunt prezente ca medie $\pm$ EMS în cazul CTR ($n=4$), pentru CLO+AMI ($n=4$) și RIS+ARI/QUE ($n=4$); “**” indică semnificație statistică în situația de $p<0.05$ pentru ANOVA unifactorială [40].

4.2 Studiul 2

4.2.1 Labirintul T pentru teste de memorie

În cazul parametrilor specifici cognitivi, latența de înot până în punctul de decizie a fost semnificativ mai mare în KET+RIS, în comparație cu grupul tratat cu RIS ($p = 0.005$) (Fig. 9A). Totuși în cazul frecvenței rotațiilor spre stânga (Fig. 9B) nu au fost înregistrate valori semnificative statistice. RIS ($p = 0.012$) cât și KET+RIS ($p = 0.012$) au petrecut semnificativ mai puțin timp în brațul drept al labirintului, în comparație cu grupul CTR (Fig. 9C), iar grupul tratat cu KET ($p = 0.050$) a petrecut semnificativ mai puțin timp comparativ cu grupul cu HAL. Pentru timpul petrecut în brațul stâng (Fig. 9D) nu au fost înregistrate diferențe între aceste grupe (Fig. 4.9) [42].

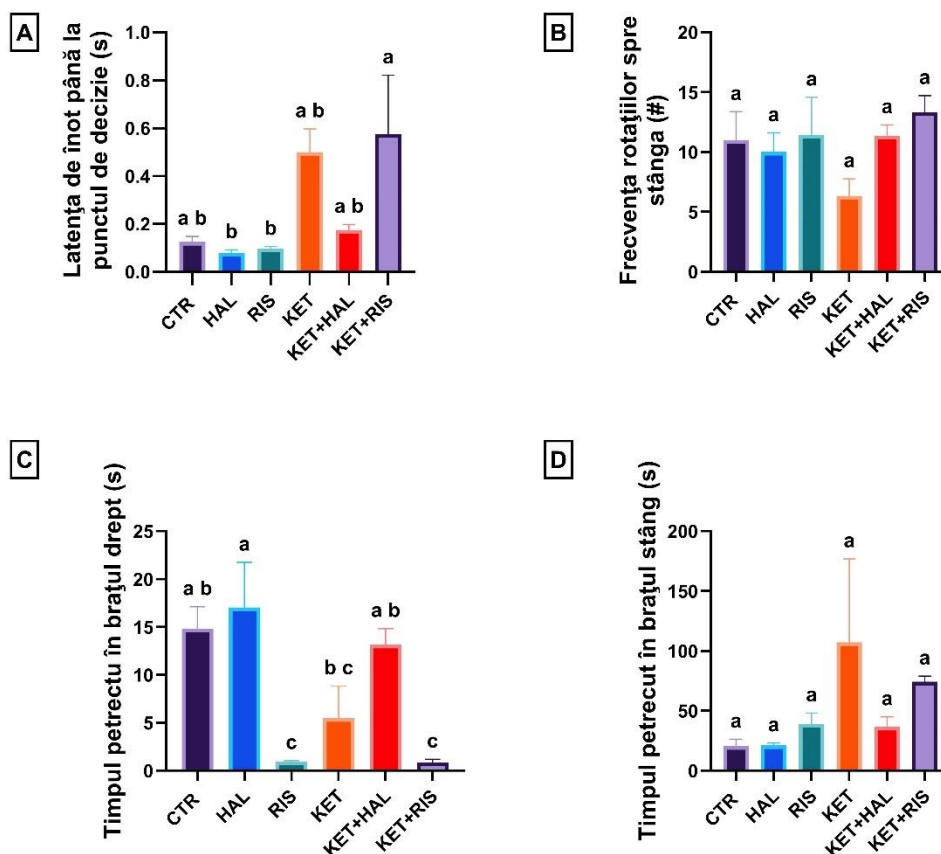


Figura 4.9. Rezultate ale testului T comportamental, pentru parametrii de cogniție (HAL = 0.13 mg/L; RIS = 0.08 mg/L; KET = 0.1 mg/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de cogniție și înot, precum (A) Latența de înot până la punctul de decizie (s), (B) Frecvența rotațiilor spre stânga (#), (C) Timpul petrecut în brațul drept (s), (D) Timpul petrecut în brațul stâng (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 5$ animale/grup; a-c, Tukey's HSD test) [42].

4.2.2 Testul cu obiecte noi plutitoare

În ceea ce privește parametrii comportamentali care descriu interacțiunea cu obiectele, am observat că timpul petrecut manifestând interes pentru stimulii spațiali (contact corporal cu obiectele) a fost semnificativ crescut după tratamentele cu HAL și RIS la controlii sănătoși (CTR vs. HAL, $p < 0.001$; CTR vs. RIS, $p < 0.001$), în timp ce efectul opus a fost semnificativ observat în grupurile tratate cu KET (CTR vs. KET, $p < 0.001$; CTR vs. KET + HAL, $p < 0.001$; CTR vs. KET + RIS, $p < 0.001$) (Fig. 11A). De asemenea, am observat că interesul pentru mingea argintie a fost semnificativ mai ridicat în grupul KET + HAL, comparativ cu grupurile CTR ($p < 0.001$) și HAL ($p < 0.001$). Totodată, tratamentul cu RIS a indus un interes mai scăzut pentru mingea argintie comparativ cu HAL în grupurile tratate cu KET (KET + HAL vs. KET + RIS, $p < 0.001$) (Fig. 11B). Proximitatea față de obiectul argintiu a fost semnificativ mai mare după tratamentul KET + RIS, comparativ cu tratamentele KET ($p = 0.004$) și KET + HAL ($p < 0.001$). Pe de altă parte, interacțiunea cu bila roșie a

fost semnificativ mai rară în grupurile tratate cu RIS și KET, comparativ cu CTR ($p_{RIS} = 0.019$) și HAL ($p_{RIS} = 0.002$, $p_{KET} = 0.021$) (Fig. 11C) [42].

Între timp, latența până la interacțiunea cu obiectul argintiu a fost semnificativ mai mare în grupul tratat cu RIS, comparativ cu CTR ($p_{RIS} < 0.001$), grupul HAL ($p_{RIS} = 0.001$) și grupul KET ($p_{RIS} < 0.001$). De asemenea, animalele tratate cu KET au manifestat un interes mai crescut pentru mingea argintie, comparativ cu cele tratate cu HAL ($p = 0.039$), în timp ce tratamentul cu RIS a părut să reducă latența până la interacțiunea cu mingea argintie ($p < 0.001$). Pe de altă parte, pentru mingea roșie (obiectul nou), latența până la interacțiune a fost semnificativ mai mare după tratamentul cu RIS, comparativ cu CTR ($p < 0.001$), KET ($p < 0.001$) și KET + RIS ($p < 0.001$) (Fig. 11D) [42].

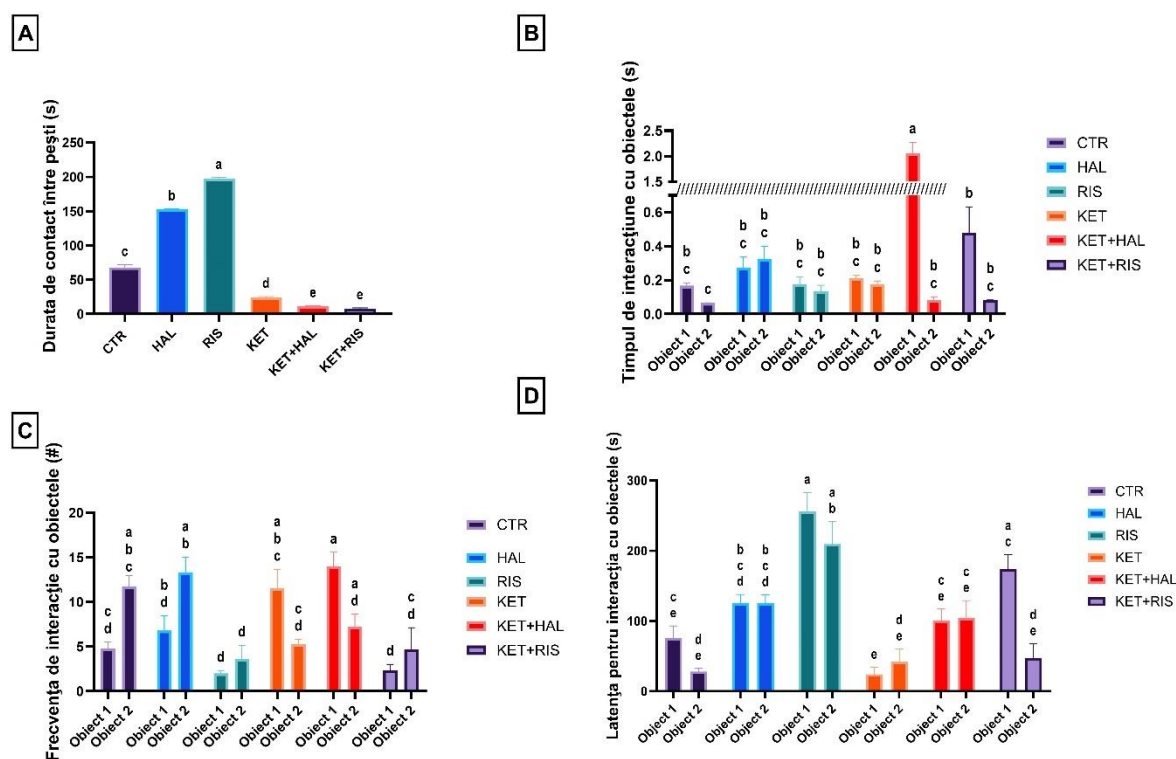


Figura 4.11 Reprezentări grafice pentru parametrii de memorie și învățare, realizate cu testul cu obiect nou în mediu (HAL = 0.13 mg/L; RIS = 0.08 mg/L; KET = 0.1 mg/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de memorie și învățare, precum (A) Durata de contact între pești (s), (B) Timpul de interacțiune cu obiectele (s), (C) Frecvența interacțiunii cu obiectele (#), (D) Latența pentru interacțiune cu obiectele (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 5$ animale/grup; (A) a-c, Tukey's HSD test; (B-D) a-e, Testul Šidák pentru comparații multiple) [42].

4.2.3 Testul de interacțiune socială

În ceea ce privește parametrii specifici care descriu comportamentele de interacțiune socială, am observat că timpul petrecut în punctul de decizie a crescut semnificativ în toate grupurile tratate cu KET, comparativ cu grupul de control

(CTR vs. KET, $p < 0,001$; CTR vs. KET + HAL, $p < 0,001$; CTR vs. KET + RIS, $p < 0,001$). De asemenea, atât HAL, cât și RIS au reușit să reducă timpul de decizie, comparativ cu grupul model (KET vs. KET + HAL, $p = 0,015$; KET vs. KET + RIS, $p = 0,001$), dar a rămas semnificativ crescut în comparație cu grupul de control netratat (KET + HAL vs. CTR, $p < 0,001$; KET + RIS vs. CTR, $p < 0,001$) (Fig. 13A).

În mod similar, timpul cumulativ petrecut în brațul stâng, cel care conține stimulii sociali, a scăzut semnificativ în toate grupurile tratate cu KET, comparativ cu grupul de control netratat (CTR vs. KET, $p = 0,009$; CTR vs. KET + HAL, $p = 0,004$; CTR vs. KET + RIS, $p = 0,005$). HAL și RIS nu au influențat preferința pentru stimulii sociali, nici la animalele netratate cu KET, nici la cele tratate cu KET (Figura 13B).

Frecvența rotațiilor în sensul acelor de ceasornic a scăzut prin tratamentul cu KET, comparativ cu grupul de control netratat (CTR vs. KET, $p < 0,001$), sugerând o potențială afectare asemănătoare anxietății. De asemenea, tratamentele cu HAL și RIS au indus efecte similare la animalele sănătoase (CTR vs. HAL, $p < 0,001$; CTR vs. RIS, $p = 0,018$), dar mai puțin pronunțate decât în grupul tratat cu KET în cazul tratamentului cu RIS (RIS vs. KET, $p < 0,001$). HAL, dar nu RIS, a atenuat semnificativ comportamentul asemănător anxietății la animalele tratate cu KET (HAL vs. KET + HAL, $p = 0,045$), dar nu la rate comparabile cu CTR (CTR vs. KET + HAL, $p = 0,018$) (Figura 13C).

Frecvența rotațiilor în sens invers acelor de ceasornic a fost semnificativ redusă prin tratamentul cu KET și a rămas semnificativ scăzută după tratamentul cu RIS, comparativ cu grupul de control netratat (CTR vs. KET, $p = 0,041$; CTR vs. KET + RIS, $p = 0,016$) (Fig. 13D).

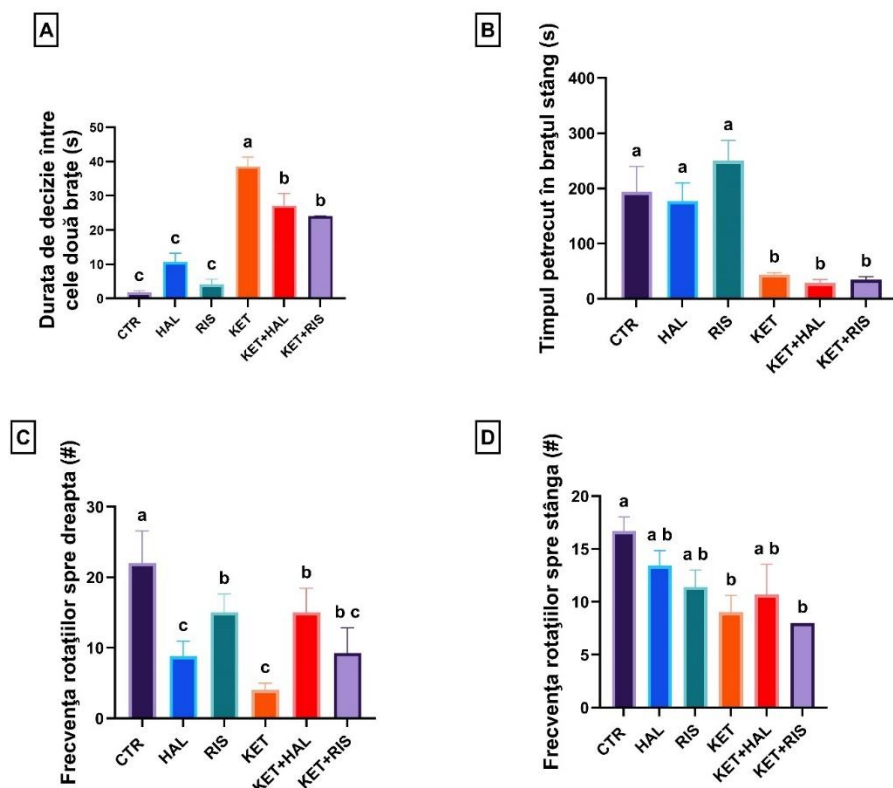


Figura 4.13 Evaluarea comportamentală a sociabilității, așa cum a fost evaluată prin testul de interacțiune socială (HAL = 0,13 mg/L; RIS = 0,08 mg/L; KET = 0,1 mg/mL). În timpul testului de 5 minute, au fost înregistrați și analizați parametrii comportamentali de locomoție și cei asemănători anxietății, cum ar fi (A) Durata de decizie între cele două brațe (s), (B) Timpul petrecut în brațul stâng (s), (C) Frecvența rotațiilor spre dreapta (#) (D) Frecvența rotațiilor spre stânga (#), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele sunt prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 5$ animale/grup; a-c, testul Tukey HSD) [42].

4.3 Studiul 3

4.3.1 Testul T pentru memorie

În cazul primei interacțiuni cu brațul stimul (14A) au fost observate diferențe între grupul tratat cu MET+OLA₂₅ vs. CTR ($p=0.011$) dar și MET+OLA₂₅ vs. MET ($p=0.014$). Pentru frecvența intrărilor în brațul stimul (14B) incidența grupurilor de MET ($p=0.009$) și al grupului tratat cu CLZ ($p=0.001$) este mai scăzută față de grupul control sănătos. Iar timpul petrecut în brațul stimul (14C) nu a prezentat nici o valoare semnificativă statistic (Fig. 4.14).

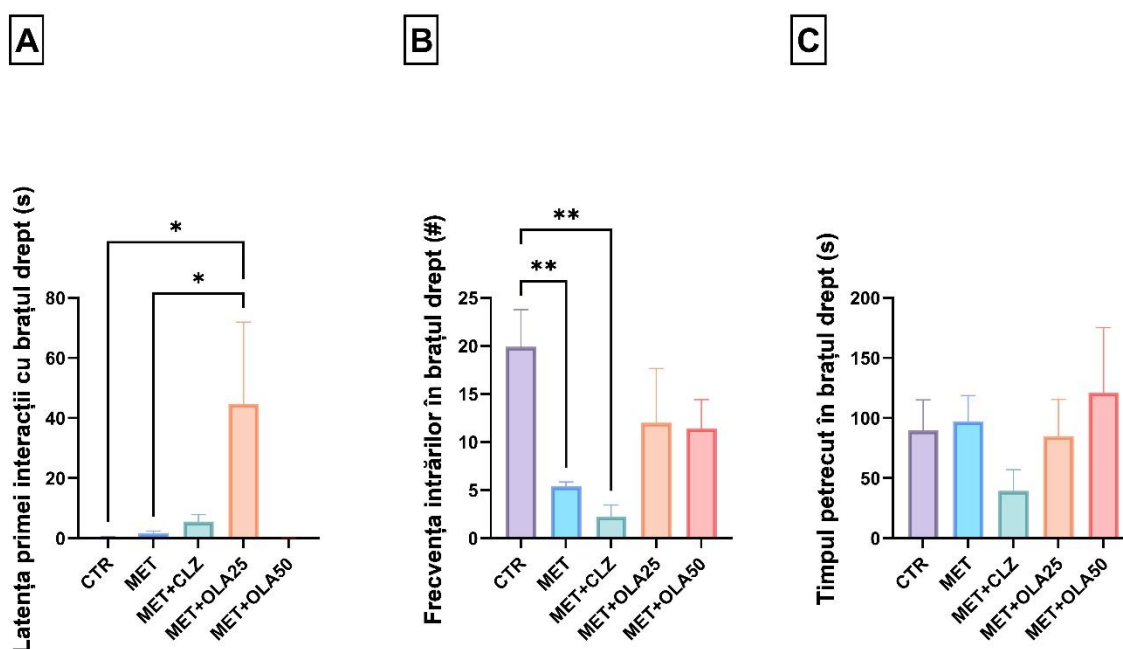


Figura 4.14 Rezultate ale testului T comportamental, pentru parametrii de înot (MET = 0,674 mg/L; MET+CLZ = 34 μ l/mL; MET+OLA₂₅ = 0,7 μ l/mL; MET+OLA₅₀ = 1,4 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de anxietate și memorie, precum (A) Latența primei interacții cu brațul drept (s), (B) Frecvența intrărilor în brațul drept (#), (C) Timpul petrecut în brațul drept (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 10$ animale, ANOVA unifactorială)

4.3.2. Test de recunoaștere a obiectelor noi

Din punct de vedere al comportamentului explorator și de memorie o serie de rezultate au fost observate. În primul rând pentru frecvența interacțiunilor directe cu obiectul (19A) au fost înregistrate diferențe între obiectul roșu și cel galben (MET+OLA₂₅ vs. MET+CLZ, $p=0.012$). Pentru timpul de interacțiune cu cele două obiecte (19B) valorile înregistrate de combinația MET+CLZ a prezentat diferențe cu obiectele adiacente față de alte grupuri, pentru obiectul unu (roșu): MET+CLZ vs. MET, ($p=0.042$); MET+CLZ vs. MET+OLA₂₅ ($p=0.022$). Iar pentru obiectul doi (galben): MET+CLZ vs. MET ($p<0.001$); MET+CLZ vs. MET+OLA₂₅ ($p=0.002$). În situația primei interacțiuni cu obiectele (19C) a fost observată o creștere a duratei până la prima interacție în cazul MET față de CTR pentru cele două obiecte pentru roșu, CTR vs. MET, ($p=0.032$); iar pentru galben, CTR vs. MET, ($p=0.020$) (Fig. 4.19).

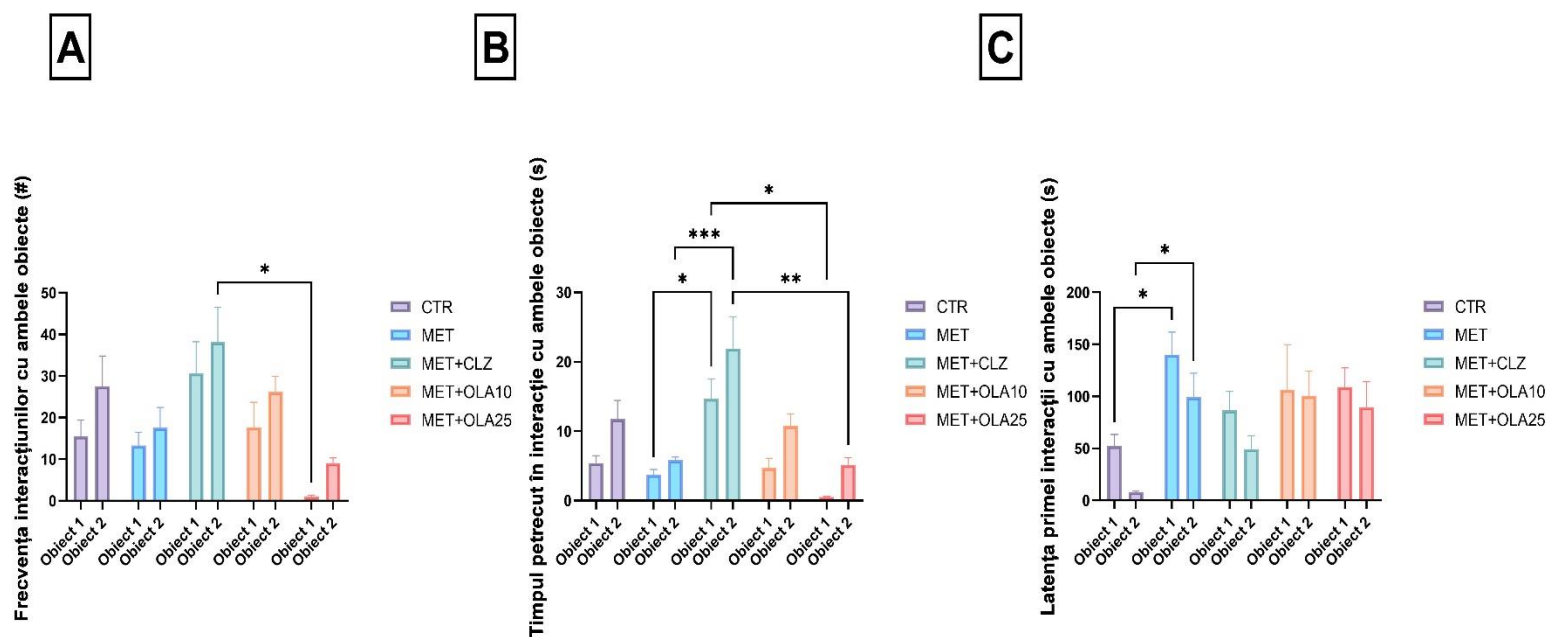


Figura 4.19. Rezultate ale testului de recunoaștere a obiectului nou în acvariu, pentru parametrii de înnot (MET = 0,674 mg/L; MET+CLZ = 34 μ l/mL; MET+OLA₂₅ = 0,7 μ l/mL; MET+OLA₅₀=1,4 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de memorie și explorare, precum (A) Frecvența interacțiunii cu ambele obiecte (#), (B) Timpul petrecut în interacție cu ambele obiecte (s), (C) Latența primei interacțiuni cu ambele obiecte (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 10$ animale, testul ANOVA bifactorială).

4.3.3 Testul de interacțiune socială

Pentru parametrii de memorie în cadrul brațului care prezenta stimulii de interes s-au remarcat următoarele fenomene. În cadrul frecvenței intrărilor în brațul stâng (21A) nu au fost identificate modificări semnificative. O scădere a timpului de interacțiune cu conspecifici (21B) poate fi observată în cazul combinației de MET+CLZ vs. CTR ($p=0.0043$). Iar o altă modificare statistică este observabilă între MET+OLA₂₅ vs. MET+OLA₅₀ ($p=0.038$) în cazul

latenței la prima interacție cu brațul stâng (21C) au fost observate diferențe statistice între MET+OLA₂₅ vs. MET+OLA₅₀ ($p=0.038$) (Fig. 4.21).

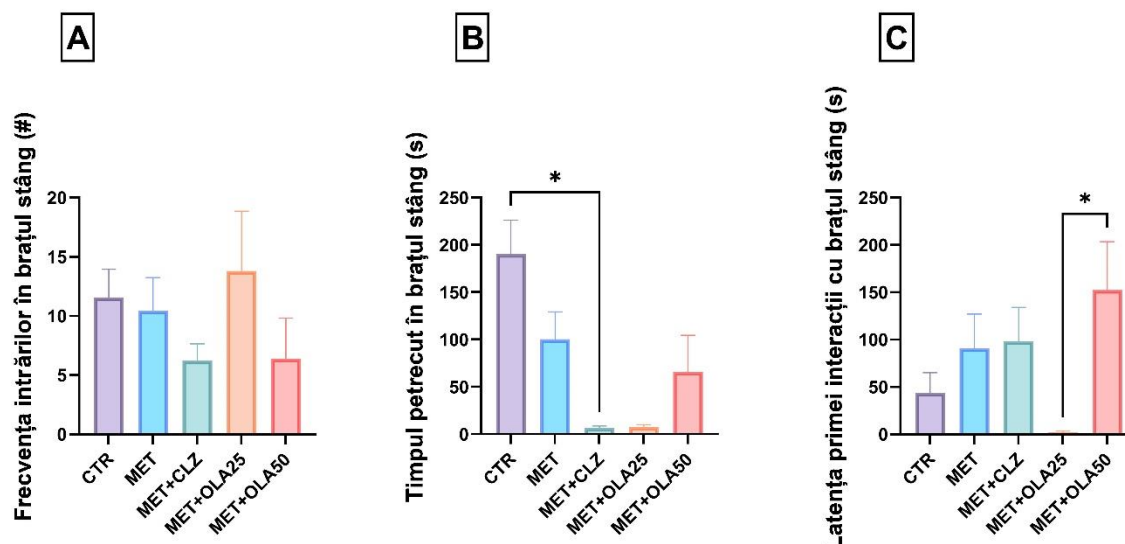


Figura 4.21 Rezultate ale testului de preferință socială, pentru parametrii de înot (MET = 0,674 mg/L; MET+CLZ = 34 μ l/mL; MET+OLA₂₅ = 0,7 μ l/mL; MET+OLA₅₀=1,4 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de sociabilitate, precum (A) Frecvența intrărilor în brațul stâng (#), (B) Timpul petrecut în brațul stâng (s), (C) Latența primei interacții cu brațul stâng (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 10$ animale, testul ANOVA unifactorială)

4.4 Studiul 4

4.4.1 Labirintul T pentru teste de memorie

În ceea ce privește parametrii ce țin de brațul stimulat, atât distanța parcursă în brațul drept cât și distanța înotată în punctul de decizie (25A și 25C), nu au înregistrat diferențe semnificative între grupe. Dar, în cazul timpului petrecut în brațul drept (25B), amestecul cu amisulpridă a înregistrat valori semnificative față de celelalte grupe din studiu MET+AMI vs. CTR ($p=0.003$), MET+AMI vs. MET ($p=0.034$); MET+AMI vs. MET+CLO₃₀₀ ($p=0.009$); MET+AMI vs. MET+CLO₆₀₀, ($p=0.004$) (Fig. 4.25)

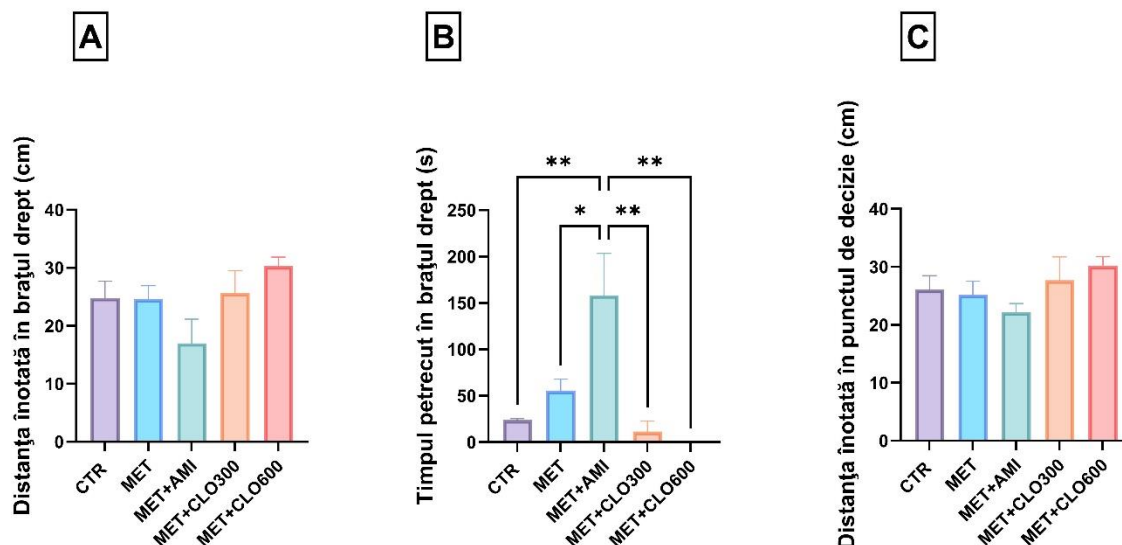


Figura 4.25 Rezultate ale testului T comportamental, pentru parametrii de memorie (MET = 0,674 mg/L; MET+AMI = 10 μ l/mL; MET+CLO300 = 17 μ l/mL; MET+CLO600 = 34 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de memorie, precum (A) Distanța înnotată în brațul drept (cm), (B) Timpul petrecut în brațul drept (s), (C) Distanța înnotată în punctul de decizie (cm), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 10$ animale, ANOVA test)

4.4.2 Testul cu obiect nou în mediu

Din punct de vedere al parametrilor ce cuantifică interacția cu obiectul galben, timpul de interacțiune cu obiectul (28A) în cazul CTR au fost înregistrate valori semnificative pentru toate celelalte grupe cuprinse în studiu ($p_{MET} < 0.001$; $p_{MET+AMI} < 0.001$; $p_{MET+CLO300} = 0.028$; $p_{MET+CLO600} = 0.012$), pentru interacția cu obiectul roșu în ceea ce privește același obiect nu au fost înregistrate diferențe. Iar, pentru obiectul galben au fost înregistrate diferențe între grupul tratat cu AMI și CLO₃₀₀ ($p = 0.033$). Iar, timpul petrecut în vecinătatea obiectelor (28B) a înregistrat în cazul obiectului galben diferențe între CTR și restul grupelor implicate în studiu ($p < 0.001$), o diferență statistică înregistrată între AMI și CLO₆₀₀ ($p = 0.022$) (Fig. 4.28).

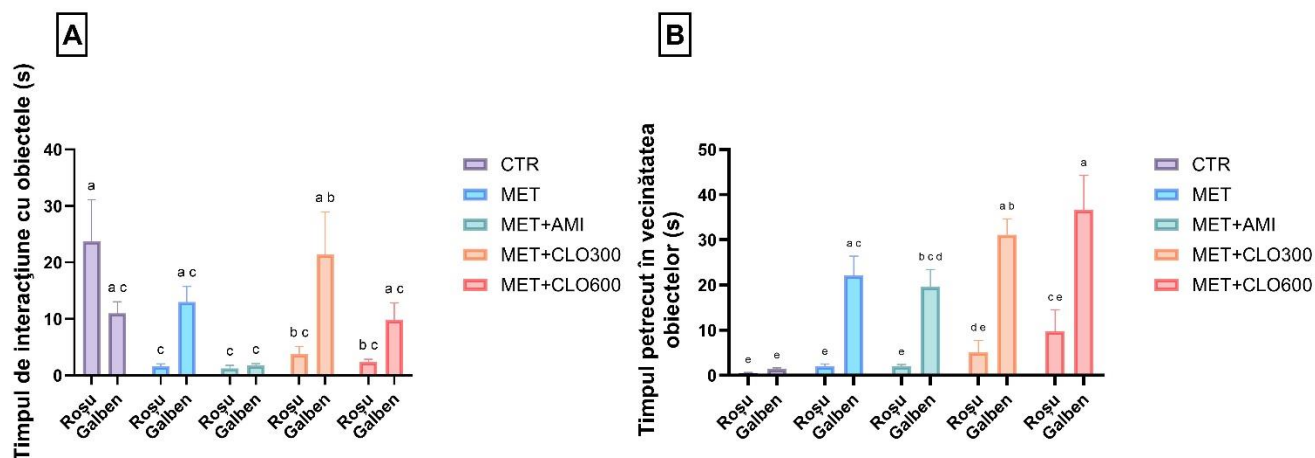


Figura 4.28. Rezultate ale testului de recunoaștere a obiectului nou în acvariu, pentru parametrii de înot (MET = 0,674 mg/L; MET+AMI = 10 μ l/mL; MET+CLO300 = 17 μ l/mL; MET+CLO600 = 34 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru parametrii de înot, precum (A) Timpul de interacțiune cu obiectele (s), (B) Timpul petrecut în vecinătatea obiectelor (s), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS ($n = 10$ animale, testul Tukey HSD; parametrii care prezintă aceeași literă nu prezintă semnificație statistică, (A) a-c; (B) a-e).

4.4.3 Testul de preferință social

Când discutăm despre parametrii de sociabilitate implicați putem menționa că distanța înotată în brațul stimulat cât și media (31A și 31B) acesteia nu au prezentat valori semnificative statistic. Dar, în cazul distanței înotate în brațul drept (31C) au fost înregistrate diferențe în cazul CLO₆₀₀ față de CTR ($p = 0.014$) cât și AMI ($p = 0.0045$) (Fig. 4.31).

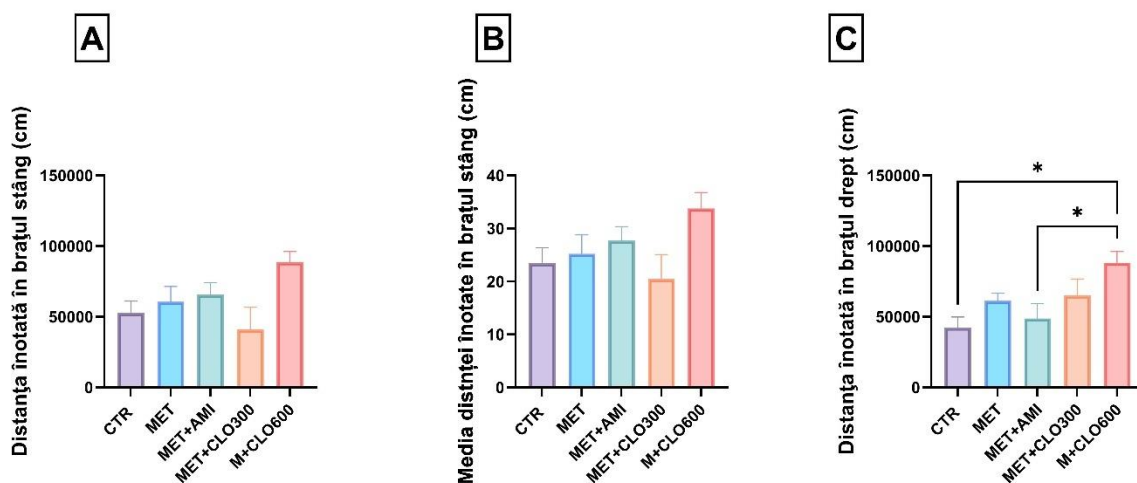


Figura 4.31. Rezultate ale testului de preferință socială, pentru parametrii de înot (MET = 0,674 mg/L; MET+AMI = 10 μ l/mL; MET+CLO300 = 17 μ l/mL; MET+CLO600 = 34 μ l/mL). Pentru un test cu o durată de 5 minute, pentru

parametrii de înot, precum (A) Distanța totală înotată (cm), (B) Velocitatea înotului (cm/s), (C) Distanța înotată în punctul de decizie (cm), au fost înregistrate și analizate. Rezultatele au fost prezentate ca medii $\pm$ EMS (n = 10 animale, testul ANOVA unifactorial).

CAPITOLUL V DISCUȚII

5.1 Experiment 1

5.1.1 MMSE & MoCA

Honer și colab. [49] au efectuat un experiment în care pacienții cu schizofrenie au primit un tratament polifarmacologic (clozapină și risperidonă), pentru a evalua reducerea simptomelor pozitive și negative. Rezultatele lor au arătat absența diferențelor semnificative între monoterapie și polifarmacologic. Această constatare este comparabilă cu observațiile echipei noastre, întrucât nu s-au remarcat diferențe între grupurile cu monotratement, respectiv politratament în ceea ce privește memoria de scurtă durată și sarcina de scriere.

Wang și colab. [50] au investigat posibila relație dintre disfuncția motorie și simptomatologia schizofreniei, observând că reducerea simptomelor negative este asociată cu o creștere a capacității motorii și a mobilității generale. Rezultatele obținute de Lähteenvuo și colab. au evidențiat un fenomen similar anume, reducerea simptomelor negative la pacienții aflați în tratament polifarmacologic, comparativ cu cei aflați în monoterapie [51]. Aspect care se poate evidenția și în rezultate obținute de echipa noastră.

Sarcina de desenare din testul MoCA a presupus realizarea unui ceas care să indice ora nouă și zece. Bozika și colab. [52] au aplicat o probă similară și au descoperit că scorurile mai mici la acest test corelează cu valori mai mari pe scala PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale), sugerând că acest tip de probă poate fi util în aprecierea stării cognitive a pacientului. Deși nu s-au evidențiat diferențe semnificative între monotratement și politratament, rezultatele lor sunt comparabile cu cele obținute de echipa noastră.

5.1.2 Chestionarul Metacognitiv-30 (MCQ-30)

Deși nu au apărut diferențe semnificative în ceea ce privește încrederea cognitivă, pacienții tratați cu combinații dintre risperidonă cu aripiprazol sau quetiapină au demonstrat o susținere mai mare a convingerilor pozitive despre îngrijorare, comparativ atât cu grupul de control, cât și cu pacienții tratați cu clozapină și amisulpridă. Acest model poate reflecta o tendință crescută spre rigiditate cognitivă sau evaluare maladadaptativă a îngrijorării ca mecanism de adaptare, un fenomen adesea descris în schizofrenie [53,54]. Amplificarea unor astfel de convingeri ar putea contribui la un proces de frământare interioară și la procese de gândire intruzive care mențin suferința și persistența simptomelor.

Conștientizarea autoreflexivă (conștiința de sine cognitivă) a fost cea mai mare în rândul participanților sănătoși comparativ cu cei cu schizofrenie, în concordanță cu dovezile stabilite că schizofrenia este frecvent asociată cu o capacitate introspectivă și metacognitivă diminuată [55,56]. Factorii farmacologici ar putea juca un rol contributiv: anumiți agenți pot afecta flexibilitatea cognitivă prin mecanisme dopaminergice prefrontale sau efecte de sedare secundară [57,58]. Astfel de influențe legate de medicație asupra cogniției ar putea interacționa cu deficitele legate de boală pentru a restricționa și mai mult conștientizarea metacognitivă.

5.2 Studiul 2

5.2.1 Testul T pentru memorie

Modelul nostru de pește zebra bazat pe KET, descris anterior din punct de vedere comportamental și validat de grupul nostru [59], reflectă unele dintre caracteristicile comportamentale specifice SCZ, cum ar fi deficiențele locomotorii care sugerează efecte disociative, confuzia și afectarea proceselor cognitive decizionale. În acest fel, pe parcursul tuturor paradigmatelor de evaluare comportamentală (sarcina de memorie T, sarcina NOR și sarcina de preferință socială), am observat că principalii parametri de locomoție au fost semnificativ afectați în grupurile tratate cu KET. Vinnakota și colab. [60] au observat că, într-un model de șoarece, KET a indus modificări ale receptorului NMDA la nivelul subunității GluN2D (responsabilă de neurotransmisia excitatorie și plasticitatea sinaptică), rezultând în tulburări de locomoție și comportament legat de anxietate.

Mai mult, parametrii comportamentali asociați cu procesele cognitive decizionale (cum ar fi latența deplasării către punctul de decizie, timpul petrecut în punctul de decizie, rotațiile în sensul acelor de ceasornic și în sens invers acelor de ceasornic) au fost modificați semnificativ și sugestiv prin expunerea la KET. Astfel, comportamente precum rotirea excesivă și capacitatea sporită de înot au fost observate și în modelul nostru, așa cum este descris și în studiile anterioare [61,62]. O altă caracteristică importantă pe care am modelat-o cu succes prin expunerea la KET ar putea fi corelată cu tulburările de învățare asociativă observate la pacienții cu SCZ. Din cauza afectării glutamatergice, atât pacienții cu SCZ, cât și modelele de pește zebra expuse la KET au prezentat o formare mai lentă a memoriei spațiale [63–65]. Rezultatele noastre au arătat că grupurile expuse la KET au petrecut mai mult timp în punctele de decizie ca urmare a memoriei spațiale afectate cu privire la poziția stimulilor alimentari, obiecte cunoscute sau noi și congenere.

5.2.2 Testul cu obiecte noi în mediu

Numeroase studii anterioare au elucidat faptul că afectarea căilor de dopamină, în special prin antagonismul receptorului D2 de către HAL, poate rectifica procesarea anormală legată de recompensă indusă de KET [66,67]. În schimb, cercetările anterioare indică faptul că hipofuncția receptorului NMDA indusă de KET poate afecta plasticitatea sinaptică și codificarea memoriei, influențând astfel efectele compensatorii ale tratamentului antipsihotic [68,69]. Pe de altă parte, alte studii [70] au raportat că tratamentul cu HAL nu a îmbunătățit capacitatea șoarecilor de a recupera informațiile învățate în testele de memorie. Aceste rapoarte contradictorii ar putea fi rezultatul unui mecanism de interacțiune medicamentoasă încă neînțeles [24].

Un alt efect important al tratamentului combinat KET-RIS a fost obținut în timpul testului NOR. Spre deosebire de protocolul original al lui Gaspary și colab. [71], Magyary [43] a adus o îmbunătățire semnificativă prin schimbarea obiectelor statice încorporate în mediu cu obiecte plutitoare la suprafața apei pentru a stimula comportamentele asociate hrănirii și comportamente exploratorii. Rezultatele noastre au sugerat că expunerea combinată KET-RIS duce la un comportament exploratoriu semnificativ redus, cel mai probabil datorită comportamentelor de îngheț induse de RIS, așa cum s-a observat și în sarcina de memorie realizat în labirintul T. Egan și colab. [72] au explicat apariția comportamentului de îngheț indus de KET cu proprietățile anestezice ale KET, însă dozele actuale au fost alese pentru a evita efectele sedative. Rogóz [73] și Samizadeh și colab. [74] nu au asociat comportamentul exploratoriu redus cu

tratamentele antipsihotice în sarcina NOR; prin urmare, studiile suplimentare ar trebui să se concentreze pe elucidarea rezultatelor contradictorii.

5.2.3 Testul de preferință socială

Deficiențele de interacțiune socială sunt, de asemenea, componente foarte importante ale comportamentului modificat de SCZ. În acest fel, atât simptomele pozitive, cât și cele negative ale SCZ, precum și deficiențele de memorie și învățare, ar putea contribui la apariția acestor modificări. Detașarea socială a fost descrisă anterior ca un comportament tipic pentru pacienții cu SCZ, totuși se cunosc puține lucruri despre efectele antipsihoticelor în acest sens. Rezultatele noastre au sugerat că afectarea interacțiunii sociale indusă de KET nu ar putea fi atenuată de dozele actuale atât ale antipsihoticelor tipice, cât și ale celor atipice pe care le-am testat. Evitarea marcată a brațului care conține stimuli sociali și prezența semnificativ crescută a animalelor tratate cu KET în punctul de decizie în timpul sarcinii de preferință socială, ignorând tratamentul antipsihotic, ar putea sugera că retragerea socială ar putea fi cauzată de deficiențe de memorie și învățare. Mai multe studii au descris anterior corelația dintre retragerea socială observată la pacienții cu SCZ cu atenție afectată și memorie verbală și de lucru alterată [75,76]. În plus, interacțiunea socială afectată a fost documentată anterior la larvele de pește zebra tratate cu RIS [77], acest lucru fiind în concordanță cu unele studii efectuate pe pacienți cu SCZ care au raportat un comportament social afectat sau niciun beneficiu social după tratamentele antipsihotice [78,79]. Aceste modificări ar putea reflecta o convergență a hipofuncției receptorilor NMDA, care perturbă rețelele corticale necesare pentru cunoașterea socială, cu disreglarea dopaminergică, care poate afecta aspectele legate de recompensă ale interacțiunii sociale [68,80,81].

5.3 Studiul 3

5.3.1 Testul T pentru memorie

Rezultatele prezentului studiu evidențiază modificările comportamentale ale metioninei (MET), clozapinei (CLZ) și olanzapinei (OLA), administrate individual sau în combinație, asupra capacității de memorie. Rezultatele latenței primei interacțiuni cu brațul drept, a frecvenței intrărilor și a timpului petrecut în brațul drept sugerează că aceste substanțe influențează distinct inițierea și dinamica memoriei.

În ceea ce privește latența primei interacțiuni cu brațul drept, combinația MET + OLA₂₅ determină o creștere semnificativă a acestui parametru comparativ cu grupurile de control și MET + CLZ. Această întârziere poate reflecta o reducere a inițierii comportamentului explorator și o inhibiție comportamentală accentuată. Din perspectivă farmacologică, olanzapina prezintă o afinitate ridicată pentru receptorii histaminergici H₁, iar antagonismul acestora este bine cunoscut ca mecanism principal al sedării și încetinerii psihomotorii asociate antipsihoticelor de generație nouă [82,83]. Analiza frecvenței intrărilor în brațul drept a evidențiat o scădere semnificativă în grupurile tratate cu MET și MET + CLZ comparativ cu controlul, sugerând o diminuare a procesului de învățare și memorare. Asocierea cognitivă este strâns legată de activarea sinapselor dopaminergice mezolimbice, iar perturbarea acestora reprezintă un mecanism central în schizofrenie [67]. Metionina, prin influențele sale asupra transmiterii și metabolismului monoaminelor, ar putea contribui la un comportament explorator fragmentat, caracterizat prin inițiere relativ intactă, dar frecvență redusă a reintrărilor.

5.3.2 Testul cu obiect nou în acvariu

Analiza timpului petrecut în interacțiune cu obiectele a evidențiat diferențe robuste în cazul grupului MET+CLZ comparativ cu MET și MET+OLA₂₅, atât pentru obiectul familiar, cât și pentru obiectul nou. Creșterea timpului de interacțiune cu obiectele în grupul MET+CLZ sugerează o explorare mai constantă și o posibilă îmbunătățire a procesării noutății, compatibilă cu un efect de tip îmbunătățire asupra deficitelor induse de metionină. Literatura susține faptul că explorarea prelungită a obiectului nou reflectă o capacitate eficientă a memoriei și o păstrare intactă al discriminării între stimuli familiari și noi [25,84].

În contrast, valorile mai reduse observate în grupurile tratate cu MET și MET+OLA₂₅ pot reflecta fie o afectare a memoriei de recunoaștere, fie o creștere a anxietății sau o diminuare a comportamentului explorator. Având în vedere rolul metioninei în ciclul carbonilic și în reglarea transmiterii, este posibil ca modelul observat să fie asociat cu modificări epigenetice și sinaptice care afectează funcționarea circuitelor hipocamp–cortex perirhinal, rețele sinaptice importante pentru recunoașterea obiectelor [85–87].

În ceea ce privește latența până la prima interacțiune cu obiectele, creșterea semnificativă observată în grupul MET comparativ cu controlul, pentru ambele obiecte, sugerează o întârziere a inițierii explorării. Acest tipar este frecvent interpretat ca un indicator al creșterii anxietății sau al reducerii interacțiunii cu stimuli noi, mai degrabă decât ca un deficit al memoriei propriu-zis [88,89]. Faptul că această creștere a latenței este prezentă pentru ambele obiecte susține ipoteza unei alterări generale a inițierii comportamentului explorator, posibil asociată cu modificări ale procesării vizuale.

5.3.3 Testul de interacțiune socială

Modificările latențelor și ale timpului petrecut în punctul de decizie sugerează o alterare a proceselor de selecție a răspunsului comportamental și a strategiilor de explorare socială. În paradigmele de tip T-maze utilizate la peștii zebra, timpul crescut petrecut în punctele de decizie este frecvent interpretat ca indicator al indeciziei sau al unei capacități reduse de procesare a mediului, mai degrabă decât ca evitarea socială propriu-zisă [89,90]. În acest sens, datele obținute sugerează că modelul de schizofrenie indus de metionină poate implica o disfuncție a integrării informației spațiale și sociale, cu impact asupra organizării comportamentului bazal.

Un rezultat deosebit de relevant este reprezentat de modificările asociate timpului petrecut în brațul stimul și ale latenței primei interacțiuni cu acesta, care indică o influență a MET asupra strategiilor spațiale și a flexibilității comportamentale în context social. Având în vedere rolul metioninei în ciclul carbonilic și în reglarea transmiterii SAM, iar literatura de specialitate susține că aceste efecte posibil să reflecte modificări ale expresiei genelor implicate în plasticitatea sinaptică și în funcționarea sinapselor cortico-limbice, sinapse esențiale pentru cogniția socială [85–87].

Faptul că antipsihoticele modulează parțial aceste variabile sugerează un efect de îmbunătățire asupra unor componente ale comportamentului social, însă fără o refacere completă. Această observație este în acord cu datele clinice care arată că, deși antipsihoticele pot ameliora simptomele pozitive și anumite componente afective, beneficiile asupra funcționării sociale sunt adesea limitate și dependente de context [91,92]. În special, clozapina a fost descrisă

ca având efecte mai favorabile asupra anumitor domenii funcționale comparativ cu alte antipsihotice, însă aceste efecte nu se traduc uniform în îmbunătățiri ale comportamentului social [93,94].

5.4 Studiul 4

5.4.1 Testul T pentru memorie

În ceea ce privește parametrii asociați brațului stimul, rezultatele indică un profil comportamental selectiv, caracterizat prin modificări predominante la nivelul duratei de staționare, mai degrabă decât al mobilității orientate spațial. Astfel, distanța parcursă în brațul drept și distanța înotată în punctul de decizie nu au evidențiat diferențe semnificative între grupuri, sugerând că tratamentele nu au afectat în mod substanțial capacitatea de orientare. În schimb, timpul petrecut în brațul drept a fost semnificativ crescut în grupul MET+AMI, în absența unei creșteri corespunzătoare a activității locomotorii, sugerând un comportament de tip îngheț sau o dificultate în inițierea comportamentului explorator activ în zona stimul. În paradigmele comportamentale, acest tipar este interpretat ca o disociere între prezența într-o zonă și explorarea activă a acesteia, fiind asociat cu inhibiția dopaminergică sau cu rigiditatea comportamentală [88,89].

5.4.2 Testul cu obiect nou în acvariu

Un element metodologic important al acestui test îl constituie utilizarea unui obiect plutitor ca stimul nou, care introduce o componentă suplimentară de complexitate perceptivă și spațială. Interacțiunea cu un astfel de stimul presupune integrarea informațiilor senzoriale și evaluarea tridimensională a mediului, procese care sunt cunoscute ca fiind afectate în schizofrenie, în special în sfera simptomelor cognitive. Paradigmele de tip obiect nou sunt utilizate frecvent pentru evaluarea procesării noutății și a atenției, inclusiv în contextul schizofreniei [95], iar adaptarea acestora pentru modelul pește zebra contribuie la creșterea relevanței translaționale a rezultatelor obținute.

Analiza parametrilor comportamentali care cuantifică interacțiunea cu obiectele a evidențiat diferențe semnificative între grupurile experimentale, sugerând modificări relevante ale procesării stimulilor noi și ale comportamentului explorator în modelul indus de metionină. În special, timpul de interacțiune cu obiectul galben a fost semnificativ mai ridicat în grupul martor comparativ cu toate celelalte grupe experimentale, indicând un comportament explorator intact și o preferință clară pentru stimulul nou în condiții fiziologice. Acest profil este în concordanță cu datele existente din literatura de specialitate, care arată că peștele zebra prezintă un comportament robust de investigare a obiectelor noi, utilizat frecvent ca indicator al integrității proceselor cognitive și atenționale [96].

În grupul tratat cu metionină, reducerea semnificativă a timpului de interacțiune cu obiectul galben sugerează o alterare a procesării noutății și a capacității de discriminare a stimulilor relevanți din mediu. Astfel de modificări comportamentale sunt compatibile cu ipoteza conform căreia metionina poate induce un model de schizofrenie, caracterizat prin deficite cognitive și perturbări ale proceselor de atenție, fără a afecta în mod direct capacitatea de înot. Literatura recentă susține această interpretare, subliniind faptul că modelele farmacologice utilizate în schizofrenie tind să afecteze predominant dimensiunile cognitive și perceptivă ale comportamentului [97].

Tratamentul cu antipsihotice a modulat comportamentul de interacțiune cu obiectele, în funcție de substanță și doză. În cazul amisulpridei, timpul de interacțiune cu obiectul galben a rămas redus comparativ cu grupul martor, dar

diferențele observate între grupurile tratate cu amisulpridă și clozapină sugerează un efect distinct al mecanismelor farmacologice implicate. Având în vedere profilul farmacodinamic al amisulpridei, predominant antagonist dopaminergic D₂/D₃, aceste rezultate pot reflecta o influență mai pronunțată asupra proceselor motivaționale și asupra inițierii comportamentului explorator, comparativ cu clozapina, care prezintă un mecanism polifarmacologic [97].

În ceea ce privește timpul petrecut în vecinătatea obiectelor, diferențele semnificative observate între grupul martor și toate celelalte grupe, în special pentru obiectul galben, indică faptul că tratamentul cu metionină și intervențiile farmacologice ulterioare influențează nu doar interacțiunea activă cu stimulii, ci și tendința de apropiere și menținere în proximitatea acestora. Acest parametru este considerat un indicator sensibil al comportamentului de explorare și al proceselor de evaluare a mediului, fiind utilizat în mod frecvent în acest tip de paradigmă [95].

5.4.3 Testul de interacțiune socială

Analiza parametrilor de sociabilitate a evidențiat un profil diferențiat al comportamentului social, dependent de măsura comportamentală analizată. Lipsa diferențelor semnificative pentru distanța înnotată în brațul stimul și media distanței în acest braț sugerează că tendința generală de apropiere față de stimulul social rămâne relativ stabilă. Aceste rezultate sunt concordante cu literatura care arată că anumite componente ale sociabilității, precum apropierea inițială de conspecifici, pot fi mai rezistente la manipulări farmacologice acute sau subcronice [89,98]

În contrast, distanța înnotată în brațul drept a prezentat diferențe semnificative în cazul grupului tratat cu clozapină la doza de 600 µg/mL, comparativ cu grupul martor și cu grupul tratat cu amisulpridă. Având în vedere că acest braț nu reprezintă zona stimul, creșterea activității în această regiune poate reflecta o redistribuire a explorării spațiale sau o modificare a strategiilor de explorare, mai degrabă decât o modificare directă a preferinței sociale. Astfel de efecte au fost descrise anterior în cazul compușilor cu profil farmacologic complex, care pot influența simultan procesele de integrare senzorială, decizie spațială și organizare a comportamentului [96].

Diferența semnificativă observată între cele două doze de clozapină pentru timpul petrecut în brațul stâng sugerează un efect dependent de doză asupra persistenței comportamentului orientat către stimulul social. Acest rezultat indică faptul că dozele mai mari pot modula menținerea interacțiunii sociale, fără a influența neapărat inițierea acesteia, un aspect raportat și în studiile clinice și preclinice care evidențiază efecte diferențiale ale clozapinei asupra funcționării sociale [99].

CAPITOLUL VI CONCLUZII FINALE ASUPRA TEZEI

Datele obținute în studiul clinic completează și susțin observațiile experimentale. Evaluările cognitive realizate prin MMSE și MoCA au indicat deficite persistente în domenii precum orientarea, atenția, memoria verbală și gândirea abstractă, atât în monoterapie, cât și în tratament polifarmaceutic. Absența unor diferențe consistente între monoterapie și tratamentele combinate sugerează că intensificarea farmacologică nu se traduce automat prin beneficii cognitive semnificative. Mai mult, rezultatele indică faptul că performanța cognitivă este influențată de interacțiunea complexă dintre simptomatologia negativă, efectele extrapiramidale și profilul farmacologic al tratamentului, mai degrabă decât de numărul de antipsihotice administrate.

Analiza metacognitivă, realizată prin intermediul MCQ-30, a evidențiat faptul că tratamentele antipsihotice complexe pot fi asociate cu convingeri metacognitive maladaptative mai pronunțate, în special în domeniul îngrijorării și al controlului gândurilor. Aceste rezultate sugerează că, deși anumite combinații farmacologice pot ameliora componente ale simptomatologiei pozitive sau negative, ele pot contribui concomitent la menținerea unor stiluri cognitive rigide sau dezadaptative. Metacogniția apare astfel ca o dimensiune esențială a variabilității clinice în schizofrenie, relativ independentă de ameliorarea simptomelor psihotice clasice.

Prin integrarea rezultatelor experimentale și clinice, teza evidențiază valoarea translațională a modelelor pe *Danio rerio* pentru investigarea mecanismelor cognitive și comportamentale relevante pentru schizofrenie. Modelele comportamentale identificate – în special cele legate de inițierea explorării, procesarea noutății și flexibilitatea cognitivă – pot fi considerate modele utile pentru evaluarea efectelor farmacologice și pentru dezvoltarea unor strategii terapeutice mai bine ținute.

În concluzie, rezultatele obținute susțin ideea că deficitele cognitive și metacognitive reprezintă componente centrale și relativ rezistente ale schizofreniei, care nu sunt pe deplin corectate prin tratamentul antipsihotic standard. Diferențele marcate dintre antipsihotice în ceea ce privește impactul asupra cogniției și comportamentului subliniază necesitatea unei abordări personalizate a tratamentului, care să ia în considerare nu doar controlul simptomelor pozitive, ci și profilul cognitiv și metacognitiv al pacientului. Prin contribuțiile sale teoretice, experimentale și clinice, prezenta teză oferă un cadru solid pentru cercetări viitoare orientate spre optimizarea intervențiilor terapeutice și dezvoltarea unor strategii integrate care să vizeze funcționarea cognitivă și socială în schizofrenie.

BIBLIOGRAFIE

1. Ross, C.A.; Margolis, R.L.; Reading, S.A.J.; Pletnikov, M.; Coyle, J.T. Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron* **2006**, *52*, 139–153.
2. WHO International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems ICD-10: Instruction Manual. *WORLD HEALTH ORGANIZATION -WHO nternational statistical classification of diseases and related health problems ICD-10: instruction manual* **2016**, *2*, 252.
3. American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* **2013**, doi:10.1176/APPI.BOOKS.9780890425596.
4. Tripathi, A.; Kar, S.K.; Shukla, R. Cognitive Deficits in Schizophrenia: Understanding the Biological Correlates and Remediation Strategies. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience* **2018**, *16*, 7, doi:10.9758/CPN.2018.16.1.7.
5. Chokhawala, K.; Stevens, L. Antipsychotic Medications. *StatPearls* **2023**.
6. Élie, D.; Poirier, M.; Chianetta, J.M.; Durand, M.; Grégoire, C.A.; Grignon, S. Cognitive Effects of Antipsychotic Dosage and Polypharmacy: A Study with the BACS in Patients with Schizophrenia and Schizoaffective Disorder. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881108100777> **2009**, *24*, 1037–1044, doi:10.1177/0269881108100777.
7. Hori, H.; Yoshimura, R.; Katsuki, A.; Hayashi, K.; Ikenouchi-Sugita, A.; Umene-Nakano, W.; Nakamura, J. The Cognitive Profile of Aripiprazole Differs from That of Other Atypical Antipsychotics in Schizophrenia Patients. *J. Psychiatr. Res.* **2012**, *46*, 757–761, doi:10.1016/j.jpsychires.2012.02.013.
8. Hori, H.; Noguchi, H.; Hashimoto, R.; Nakabayashi, T.; Omori, M.; Takahashi, S.; Tsukue, R.; Anami, K.; Hirabayashi, N.; Harada, S.; et al. Antipsychotic Medication and Cognitive Function in Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2006**, *86*, 138–146, doi:10.1016/J.SCHRES.2006.05.004.
9. Moritz, S.; Woodward, T.S.; Krausz, M.; Naber, D.; Group, P.S. Relationship between Neuroleptic Dosage and Subjective Cognitive Dysfunction in Schizophrenic Patients Treated with Either Conventional or Atypical Neuroleptic Medication. *Int. Clin. Psychopharmacol.* **2002**, *17*.

10. Ayano, G. First Generation Antipsychotics: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Therapeutic Effects and Side Effects: A Review. *Research & Reviews: Journal of Chemistry* **2016**.
11. Spooner C; Abou-Setta; AM Mousavi SS; Mousavi, S.; Abou-Setta, A. First-Generation Versus Second-Generation Antipsychotics in Adults: Comparative Effectiveness. *Database of Abstracts of Reviews of Effects* **2012**.
12. Goldberg, T.E.; Goldman, R.S.; Burdick, K.E.; Malhotra, A.K.; Lencz, T.; Patel, R.C.; Woerner, M.G.; Schooler, N.R.; Kane, J.M.; Robinson, D.G. Cognitive Improvement After Treatment With Second-Generation Antipsychotic Medications in First-Episode Schizophrenia: Is It a Practice Effect? *Arch. Gen. Psychiatry* **2007**, *64*, 1115–1122, doi:10.1001/ARCHPSYC.64.10.1115.
13. Cuesta, M.J.; Peralta, V.; Zarzuela, A. Effects of Olanzapine and Other Antipsychotics on Cognitive Function in Chronic Schizophrenia: A Longitudinal Study. *Schizophr. Res.* **2001**, *48*, 17–28, doi:10.1016/S0920-9964(00)00112-2.
14. Livingston, J.A. Metacognition: An Overview. 2003.
15. Mihaljević-Peš, A.; Bajs Janović, M.; Šagud, M.; Živković, M.; Janović, Š.; Jevtović, S. Cognitive Deficit in Schizophrenia: An Overview. *Psychiatr. Danub.* **2019**, *31*, 139–142.
16. Morris, B.J.; Cochran, S.M.; Pratt, J.A. PCP: From Pharmacology to Modelling Schizophrenia. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 101–106, doi:10.1016/J.COPH.2004.08.008.
17. Flores, G.; Morales-Medina, J.C.; Diaz, A. Neuronal and Brain Morphological Changes in Animal Models of Schizophrenia. *Behavioural brain research* **2016**, *301*, 190–203, doi:10.1016/J.BBR.2015.12.034.
18. Breier, A.; Su, T.P.; Saunders, R.; Carson, R.E.; Kolachana, B.S.; De Bartolomeis, A.; Weinberger, D.R.; Weisenfeld, N.; Malhotra, A.K.; Eckelman, W.C.; et al. Schizophrenia Is Associated with Elevated Amphetamine-Induced Synaptic Dopamine Concentrations: Evidence from a Novel Positron Emission Tomography Method. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1997**, *94*, 2569–2574, doi:10.1073/PNAS.94.6.2569.
19. Steeds, H.; Carhart-Harris, R.L.; Stone, J.M. Drug Models of Schizophrenia. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* **2015**, *5*, 43–58, doi:10.1177/2045125314557797.
20. Krajcovic, B.; Fajnerova, I.; Horacek, J.; Kelemen, E.; Kubik, S.; Svoboda, J.; Stuchlik, A. Neural and Neuronal Discoordination in Schizophrenia: From Ensembles through Networks to Symptoms. *Acta Physiologica* **2019**, *226*, e13282, doi:10.1111/APHA.13282.
21. Lr Gaskin, P.; Toledo-Rodriguez, M.; Stephen, ; Alexander, P.H.; Kevin, ; Fone, C.F.; Gaskin, D.; Toledo-Rodriguez, A. Down-Regulation of Hippocampal Genes Regulating

- Dopaminergic, GABAergic, and Glutamatergic Function Following Combined Neonatal Phencyclidine and Post-Weaning Social Isolation of Rats as a Neurodevelopmental Model for Schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology* **2016**, *19*, 1–13, doi:10.1093/IJNP/PYW062.
22. Schwabe, K.; Klein, S.; Koch, M. Behavioural Effects of Neonatal Lesions of the Medial Prefrontal Cortex and Subchronic Pubertal Treatment with Phencyclidine of Adult Rats. *Behavioural brain research* **2006**, *168*, 150–160, doi:10.1016/J.BBR.2005.11.005.
23. Panula, P.; Sallinen, V.; Sundvik, M.; Kolehmainen, J.; Torkko, V.; Tiittula, A.; Moshnyakov, M.; Podlasz, P. Modulatory Neurotransmitter Systems and Behavior: Towards Zebrafish Models of Neurodegenerative Diseases. *Zebrafish* **2006**, *3*, 235–247, doi:10.1089/ZEB.2006.3.235.
24. Seibt, K.J.; Piato, A.L.; da Luz Oliveira, R.; Capiotti, K.M.; Vianna, M.R.; Bonan, C.D. Antipsychotic Drugs Reverse MK-801-Induced Cognitive and Social Interaction Deficits in Zebrafish (Danio Rerio). *Behavioural Brain Research* **2011**, *224*, 135–139, doi:10.1016/j.bbr.2011.05.034.
25. Antunes, M.; Biala, G. The Novel Object Recognition Memory: Neurobiology, Test Procedure, and Its Modifications. *Cogn. Process.* **2012**, *13*, 93–110, doi:10.1007/S10339-011-0430-Z/TABLES/3.
26. Andersson, M.Å.; Ek, F.; Olsson, R. Using Visual Lateralization to Model Learning and Memory in Zebrafish Larvae. *Scientific Reports 2015 5:1* **2015**, *5*, 1–7, doi:10.1038/srep08667.
27. Kim, Y.H.; Lee, K.S.; Park, A.R.; Min, T.J. Adding Preferred Color to a Conventional Reward Method Improves the Memory of Zebrafish in the T-Maze Behavior Model. <https://doi.org/10.1080/19768354.2017.1383938> **2017**, *21*, 374–381, doi:10.1080/19768354.2017.1383938.
28. Liu, X.; Zhang, Y.; Lin, J.; Xia, Q.; Guo, N.; Li, Q. Social Preference Deficits in Juvenile Zebrafish Induced by Early Chronic Exposure to Sodium Valproate. *Front. Behav. Neurosci.* **2016**, *10*, 198395, doi:10.3389/FNBEH.2016.00201/BIBTEX.
29. Pham, M.; Raymond, J.; Hester, J.; Kyzar, E.; Gaikwad, S.; Bruce, I.; Fryar, C.; Chanin, S.; Enriquez, J.; Bagawandoss, S.; et al. Assessing Social Behavior Phenotypes in Adult Zebrafish: Shoaling, Social Preference, and Mirror Biting Tests. **2012**, 231–246, doi:10.1007/978-1-61779-597-8_17.
30. Gerlai, R. Animated Images in the Analysis of Zebrafish Behavior. *Curr. Zool.* **2017**, *63*, 35–44, doi:10.1093/CZ/ZOW077.

31. Stowers, J.R.; Hofbauer, M.; Bastien, R.; Griessner, J.; Higgins, P.; Farooqui, S.; Fischer, R.M.; Nowikovsky, K.; Haubensak, W.; Couzin, I.D.; et al. Virtual Reality for Freely Moving Animals. *Nature Methods* 2017 14:10 **2017**, 14, 995–1002, doi:10.1038/nmeth.4399.
32. Deacon, R.M.J.; Rawlins, J.N.P. T-Maze Alternation in the Rodent. *Nature Protocols* 2006 1:1 **2006**, 1, 7–12, doi:10.1038/nprot.2006.2.
33. Ogi, A.; Licitra, R.; Naef, V.; Marchese, M.; Fronte, B.; Gazzano, A.; Santorelli, F.M. Social Preference Tests in Zebrafish: A Systematic Review. *Front. Vet. Sci.* **2021**, 7, 1239, doi:10.3389/FVETS.2020.590057/BIBTEX.
34. Folstein, M.F.; Folstein, S.E.; McHugh, P.R. “Mini-Mental State”. A Practical Method for Grading the Cognitive State of Patients for the Clinician. *J. Psychiatr. Res.* **1975**, 12, 189–198, doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6.
35. Tombaugh, T.N.; McIntyre, N.J. The Mini-Mental State Examination: A Comprehensive Review. *J. Am. Geriatr. Soc.* **1992**, 40, 922–935, doi:10.1111/j.1532-5415.1992.tb01992.x.
36. Gauthier, S.; Reisberg, B.; Zaudig, M.; Petersen, R.C.; Ritchie, K.; Broich, K.; Belleville, S.; Brodaty, H.; Bennett, D.; Chertkow, H.; et al. Mild Cognitive Impairment. *Lancet* **2006**, 367, 1262–1270, doi:10.1016/S0140-6736(06)68542-5.
37. Hobson, J. The Montreal Cognitive Assessment (MoCA). *Occup. Med. (Chic. Ill).* **2015**, 65, 764–765, doi:10.1093/OCCMED/KQV078.
38. Nordahl, H.; Anyan, F.; Hjemdal, O.; Wells, A. The Network Structure of Dysfunctional Metacognition: Analysis of the MCQ-30. *Acta Psychol. (Amst).* **2022**, 227, 103622, doi:10.1016/J.ACTPSY.2022.103622.
39. Wells, A.; Cartwright-Hatton, S. A Short Form of the Metacognitions Questionnaire: Properties of the MCQ-30. *Behaviour Research and Therapy* **2004**, 42, 385–396, doi:10.1016/S0005-7967(03)00147-5.
40. Lungu, P.F.; Lungu, C.M.; Novac, B.; Novac, O.; Albert, C.; Ciobica, A. Comparing the Effects of Atypical Antipsychotic Polypharmacy on Metacognitive Function in Schizophrenia: Considering AI-Assisted Interventions as a Future Direction—a Pilot Study. *Brain (Bacau).* **2026**, 17, 518, doi:10.70594/brain/17.1/34.
41. Michelotti, P.; Quadros, V.A.; Pereira, M.E.; Rosemberg, D.B. Ketamine Modulates Aggressive Behavior in Adult Zebrafish. *Neurosci. Lett.* **2018**, 684, 164–168, doi:10.1016/J.NEULET.2018.08.009.
42. Lungu, P.F.; Hritcu, L.D.; Nicoara, M.-N.; Savuca, A.; Curpan, A.-S.; Chelaru, A.I.; Lungu, C.M.; Gurzu, B.; Balmus, I.-M.; Ciobica, A.; et al. Preliminary Data Regarding the Alleviating Effects of Haloperidol and Risperidone on the Short-Term Memory and

- Associative Learning in a Zebrafish Model of Schizophrenia. *Pharmaceuticals* **2025**, *18*, 1548, doi:10.3390/ph18101548.
43. Magyary, I. Floating Novel Object Recognition in Adult Zebrafish: A Pilot Study. *Cogn. Process.* **2019**, *20*, 359–362, doi:10.1007/S10339-019-00910-5/FIGURES/5.
44. Ved, H.; Doshi, G.; Bhatia, N.; Kale, P. Metoclopramide as a Potential Antipsychotic Against Long-Term Methionine Exposure in Zebrafish. <https://home.liebertpub.com/zeb> **2023**, *20*, 19–27, doi:10.1089/ZEB.2022.0033.
45. Subramanian, S.; Völlm, B.A.; Huband, N. Clozapine Dose for Schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2017**, *2017*, doi:10.1002/14651858.CD009555.PUB2/MEDIA/CDSR/CD009555/IMAGE_T/TCD009555-CMP-003-08.XXX.
46. Latifeh, Y.; Mohsen, M.; Mohamad, S.; Nassif, T. Olanzapine Dose for People with Schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2019**, *2019*, doi:10.1002/14651858.CD013266/MEDIA/CDSR/CD013266/IMAGE_T/TCD013266-AFIG-FIG01.PNG.
47. Nair, A.B.; Jacob, S. A Simple Practice Guide for Dose Conversion between Animals and Human. *J. Basic Clin. Pharm.* **2016**, *7*, 27, doi:10.4103/0976-0105.177703.
48. Leggieri, A.; García-González, J.; Torres-Perez, J. V.; Havelange, W.; Hosseinian, S.; Mech, A.M.; Keatinge, M.; Busch-Nentwich, E.M.; Brennan, C.H. Ankk1 Loss of Function Disrupts Dopaminergic Pathways in Zebrafish. *Front. Neurosci.* **2022**, *16*, 794653, doi:10.3389/FNINS.2022.794653/TEXT.
49. Honer, W.G.; Thornton, A.E.; Chen, E.Y.H.; Chan, R.C.K.; Wong, J.O.Y.; Bergmann, A.; Falkai, P.; Pomarol-Clotet, E.; McKenna, P.J.; Stip, E.; et al. Clozapine Alone versus Clozapine and Risperidone with Refractory Schizophrenia. *New England Journal of Medicine* **2006**, *354*, 472–482, doi:10.1056/NEJMOA053222,.
50. Wang, S.M.; Ouyang, W.C.; Wu, M.Y.; Kuo, L.C. Relationship between Motor Function and Psychotic Symptomatology in Young–Adult Patients with Schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **2020**, *270*, 373–382, doi:10.1007/S00406-019-01004-1/METRICS.
51. Lähteenvuo, M.; Tiihonen, J.; Lähteenvuo MarkkuLahteenvuo, M. Antipsychotic Polypharmacy for the Management of Schizophrenia: Evidence and Recommendations. *Drugs* **2021**, *81*, 1273–1284, doi:10.1007/S40265-021-01556-4.
52. Bozikas, V.P.; Kosmidis, M.H.; Gamvrula, K.; Hatzigeorgiadou, M.; Kourtis, A.; Karavatos, A. Clock Drawing Test in Patients with Schizophrenia. *Psychiatry Res.* **2004**, *121*, 229–238, doi:10.1016/J.PSYCHRES.2003.07.003.

53. Morrison, A.P.; Wells, A.; Nothard, S. Cognitive and Emotional Predictors of Predisposition to Hallucinations in Non-patients. *British Journal of Clinical Psychology* **2002**, *41*, 259–270, doi:10.1348/014466502760379127.
54. Freeman, D.; Garety, P. Advances in Understanding and Treating Persecutory Delusions: A Review. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* **2014**, *49*, 1179–1189, doi:10.1007/S00127-014-0928-7.
55. Warman, D.M.; Lysaker, P.H.; Martin, J.M. Cognitive Insight and Psychotic Disorder: The Impact of Active Delusions. *Schizophr. Res.* **2007**, *90*, 325–333, doi:10.1016/J.SCHRES.2006.09.011.
56. Lysaker, P.H.; Bob, P.; Pec, O.; Hamm, J.; Kukula, M.; Vohs, J.; Popolo, R.; Salvatore, G.; Dimaggio, G. Synthetic Metacognition as a Link between Brain and Behavior in Schizophrenia. *Transl. Neurosci.* **2013**, *4*, 368–377, doi:10.2478/s13380-013-0131-4.
57. Keefe, R.S.E.; Arnold, M.C.; Bayen, U.J.; Harvey, P.D. Source Monitoring Deficits in Patients with Schizophrenia; a Multinomial Modelling Analysis. *Psychol. Med.* **1999**, *29*, 903–914, doi:10.1017/S0033291799008673.
58. Stahl, S.M. *Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications*; Cambridge university press, 2021; ISBN 110883857X.
59. Curpan, A.-S.; Savuca, A.; Hritcu, L.D.; Solcan, C.; Nicoara, M.N.; Luca, A.-C.; Ciobica, A.-S. A New Approach to Explore the Correlation between Declarative Memory and Anxiety in Animal Models of Schizophrenia and Microplastic Pollution. *Behavioural Brain Research* **2024**, *458*, 114742, doi:10.1016/j.bbr.2023.114742.
60. Vinnakota, C.; Schroeder, A.; Du, X.; Ikeda, K.; Ide, S.; Mishina, M.; Hudson, M.; Charles Jones, N.; Sundram, S.; Anne Hill, R.; et al. Understanding the Role of the NMDA Receptor Subunit, GluN2D, in Mediating NMDA Receptor Antagonist-Induced Behavioral Disruptions in Male and Female Mice. *J Neurosci Res* **2023**, *102*, doi:10.1002/jnr.25257.
61. Zakhary, S.M.; Ayubcha, D.; Ansari, F.; Kamran, K.; Karim, M.; Leheste, J.R.; Horowitz, J.M.; Torres, G. A Behavioral and Molecular Analysis of Ketamine in Zebrafish. *Synapse* **2011**, *65*, 160, doi:10.1002/SYN.20830.
62. Riehl, R.; Kyzar, E.; Allain, A.; Green, J.; Hook, M.; Monnig, L.; Rhymes, K.; Roth, A.; Pham, M.; Razavi, R.; et al. Behavioral and Physiological Effects of Acute Ketamine Exposure in Adult Zebrafish. *Neurotoxicol. Teratol.* **2011**, *33*, 658–667, doi:10.1016/j.ntt.2011.05.011.
63. Zhang, Q.; Wu, S.; Wang, P.; Zhang, R.; Valenzuela, R.K.; Shang, S.; Wan, T.; Ma, J. Schizophrenia-Like Deficits and Impaired Glutamate/Gamma-Aminobutyric Acid

- Homeostasis in *Zfp804a* Conditional Knockout Mice. *Schizophr. Bull.* **2024**, *50*, 1411–1426, doi:10.1093/schbul/sbae120.
64. Benvenuti, R.; Gallas-Lopes, M.; Marcon, M.; Reschke, C.R.; Herrmann, A.P.; Piato, A. Glutamate NMDA Receptor Antagonists with Relevance to Schizophrenia: A Review of Zebrafish Behavioral Studies. *Curr. Neuropharmacol.* **2022**, *20*, 494–509, doi:10.2174/1570159X19666210215121428.
65. Zink, M.; Schmitt, A.; May, B.; Müller, B.; Demirakca, T.; Braus, D.F.; Henn, F.A. Differential Effects of Long-Term Treatment with Clozapine or Haloperidol on GABAA Receptor Binding and GAD67 Expression. *Schizophr. Res.* **2004**, *66*, 151–157, doi:10.1016/S0920-9964(03)00088-4.
66. Grace, A.A. Dysregulation of the Dopamine System in the Pathophysiology of Schizophrenia and Depression. *Nat. Rev. Neurosci.* **2016**, *17*, 524–532, doi:10.1038/nrn.2016.57.
67. Howes, O.D.; Kapur, S. The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III--The Final Common Pathway. *Schizophr. Bull.* **2009**, *35*, 549–562, doi:10.1093/schbul/sbp006.
68. Coyle, J.T. NMDA Receptor and Schizophrenia: A Brief History. *Schizophr. Bull.* **2012**, *38*, 920–926, doi:10.1093/schbul/sbs076.
69. Gandal, M.J.; Haney, J.R.; Parikshak, N.N.; Leppa, V.; Ramaswami, G.; Hartl, C.; Schork, A.J.; Appadurai, V.; Buil, A.; Werge, T.M.; et al. Shared Molecular Neuropathology across Major Psychiatric Disorders Parallels Polygenic Overlap. *Science (1979)*. **2018**, *359*, 693–697, doi:10.1126/science.aad6469.
70. Hou, Y.; Wu, C.F.; Yang, J.Y.; Guo, T. Differential Effects of Haloperidol, Clozapine and Olanzapine on Learning and Memory Functions in Mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2006**, *30*, 1486–1495, doi:10.1016/J.PNPBP.2006.06.001.
71. Gaspary, K.V.; Reolon, G.K.; Gusso, D.; Bonan, C.D. Novel Object Recognition and Object Location Tasks in Zebrafish: Influence of Habituation and NMDA Receptor Antagonism. *Neurobiol. Learn. Mem.* **2018**, *155*, 249–260, doi:10.1016/j.nlm.2018.08.005.
72. Egan, R.J.; Bergner, C.L.; Hart, P.C.; Cachat, J.M.; Canavello, P.R.; Elegante, M.F.; Elkhayat, S.I.; Bartels, B.K.; Tien, A.K.; Tien, D.H.; et al. Understanding Behavioral and Physiological Phenotypes of Stress and Anxiety in Zebrafish. *Behavioural Brain Research* **2009**, *205*, 38–44, doi:10.1016/j.bbr.2009.06.022.
73. Rogóż, Z.; Kamińska, K. The Effect of Combined Treatment with Escitalopram and Risperidone on the MK-801-Induced Changes in the Object Recognition Test in Mice. *Pharmacological Reports* **2016**, *68*, 116–120, doi:10.1016/j.pharep.2015.07.004.

74. Samizadeh, M.-A.; Abdollahi-Keyvani, S.-T.; Fallah, H.; Beigi, B.; Motamedi-Manesh, A.; Adibian, S.; Vaseghi, S. Sex Difference Alters the Behavioral and Cognitive Performance in a Rat Model of Schizophrenia Induced by Sub-Chronic Ketamine. *J. Psychiatr. Res.* **2024**, *178*, 180–187, doi:10.1016/j.jpsychires.2024.08.014.
75. De Donatis, D.; Porcelli, S.; De Ronchi, D.; Merlo Pich, E.; Kas, M.J.; Bilderbeck, A.; Serretti, A. Social Withdrawal and Neurocognitive Correlates in Schizophrenia. *Int. Clin. Psychopharmacol.* **2022**, *37*, 102–109, doi:10.1097/YIC.0000000000000395.
76. Du, N.; Meng, X.; Li, J.; Shi, L.; Zhang, X. Decline in Working Memory in Stable Schizophrenia May Be Related to Attentional Impairment: Mediating Effects of Negative Symptoms, a Cross-Sectional Study. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2024**, *Volume 20*, 149–158, doi:10.2147/NDT.S447965.
77. Kalichak, F.; de Alcantara Barcellos, H.H.; Idalencio, R.; Koakoski, G.; Soares, S.M.; Pompermaier, A.; Rossini, M.; Barcellos, L.J.G. Persistent and Transgenerational Effects of Risperidone in Zebrafish. *Environmental Science and Pollution Research* **2019**, *26*, 26293–26303, doi:10.1007/S11356-019-05890-9/METRICS.
78. Monteleone, P.; Cascino, G.; Monteleone, A.M.; Rocca, P.; Rossi, A.; Bertolino, A.; Aguglia, E.; Amore, M.; Collantoni, E.; Corrivetti, G.; et al. Prevalence of Antipsychotic-Induced Extrapyramidal Symptoms and Their Association with Neurocognition and Social Cognition in Outpatients with Schizophrenia in the “Real-Life.” *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2021**, *109*, 110250, doi:10.1016/j.pnpbp.2021.110250.
79. Kucharska-Pietura, K.; Mortimer, A. Can Antipsychotics Improve Social Cognition in Patients with Schizophrenia? *CNS Drugs* **2013**, *27*, 335–343, doi:10.1007/s40263-013-0047-0.
80. Nakazawa, K.; Zsiros, V.; Jiang, Z.; Nakao, K.; Kolata, S.; Zhang, S.; Belforte, J.E. GABAergic Interneuron Origin of Schizophrenia Pathophysiology. *Neuropharmacology* **2012**, *62*, 1574–1583, doi:10.1016/j.neuropharm.2011.01.022.
81. Barch, D.M.; Ceaser, A. Cognition in Schizophrenia: Core Psychological and Neural Mechanisms. *Trends Cogn. Sci.* **2012**, *16*, 27–34, doi:10.1016/j.tics.2011.11.015.
82. Ichikawa, J.; Ishii, H.; Bonaccorso, S.; Fowler, W.L.; O’Laughlin, I.A.; Meltzer, H.Y. 5-HT_{2A} and D₂ Receptor Blockade Increases Cortical DA Release via 5-HT_{1A} Receptor Activation: A Possible Mechanism of Atypical Antipsychotic-induced Cortical Dopamine Release. *J. Neurochem.* **2001**, *76*, 1521–1531, doi:10.1046/j.1471-4159.2001.00154.x.
83. Sato, H.; Ito, C.; Hiraoka, K.; Tashiro, M.; Shibuya, K.; Funaki, Y.; Yoshikawa, T.; Iwata, R.; Matsuoka, H.; Yanai, K. Histamine H1 Receptor Occupancy by the New-Generation Antipsychotics Olanzapine and Quetiapine: A Positron Emission Tomography Study in

- Healthy Volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*. **2015**, 232, 3497–3505, doi:10.1007/S00213-015-4002-2.
84. Dere, E.; Huston, J.P.; De Souza Silva, M.A. The Pharmacology, Neuroanatomy and Neurogenetics of One-Trial Object Recognition in Rodents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2007**, 31, 673–704, doi:10.1016/J.NEUBIOREV.2007.01.005.
85. Bottiglieri, T. S-Adenosyl-L-Methionine (SAME): From the Bench to the Bedside--Molecular Basis of a Pleiotropic Molecule. *Am. J. Clin. Nutr.* **2002**, 76, doi:10.1093/AJCN/76/5.1151S.
86. Guidotti, A.; Auta, J.; Chen, Y.; Davis, J.M.; Dong, E.; Gavin, D.P.; Grayson, D.R.; Matrisciano, F.; Pinna, G.; Satta, R.; et al. Epigenetic GABAergic Targets in Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Neuropharmacology* **2011**, 60, 1007–1016, doi:10.1016/j.neuropharm.2010.10.021.
87. Mentch, S.J.; Locasale, J.W. One-carbon Metabolism and Epigenetics: Understanding the Specificity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2016**, 1363, 91–98, doi:10.1111/nyas.12956.
88. Ennaceur, A. One-Trial Object Recognition in Rats and Mice: Methodological and Theoretical Issues. *Behavioural Brain Research* **2010**, 215, 244–254, doi:10.1016/j.bbr.2009.12.036.
89. Kalueff, A. V.; Stewart, A.M.; Gerlai, R. Zebrafish as an Emerging Model for Studying Complex Brain Disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* **2014**, 35, 63, doi:10.1016/J.TIPS.2013.12.002.
90. Norton, W.; Bally-Cuif, L. Adult Zebrafish as a Model Organism for Behavioural Genetics. *BMC Neurosci.* **2010**, 11, 1–11, doi:10.1186/1471-2202-11-90/TABLES/1.
91. Green, M.F.; Horan, W.P.; Lee, J. Social Cognition in Schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* **2015**, 16, 620–631, doi:10.1038/nrn4005.
92. Fett, A.K.J.; Viechtbauer, W.; Dominguez, M. de G.; Penn, D.L.; van Os, J.; Krabbendam, L. The Relationship between Neurocognition and Social Cognition with Functional Outcomes in Schizophrenia: A Meta-Analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2011**, 35, 573–588, doi:10.1016/J.NEUBIOREV.2010.07.001.
93. Meltzer, H.Y.; McGurk, S.R. The Effects of Clozapine, Risperidone, and Olanzapine on Cognitive Function in Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **1999**, 25, 233–256, doi:10.1093/OXFORDJOURNALS.SCHBUL.A033376.
94. Nucifora, F.C.; Woznica, E.; Lee, B.J.; Cascella, N.; Sawa, A. Treatment Resistant Schizophrenia: Clinical, Biological, and Therapeutic Perspectives. *Neurobiol. Dis.* **2019**, 131, 104257, doi:10.1016/j.nbd.2018.08.016.

95. Rajagopal, L.; Massey, B.; Huang, M.; Oyamada, Y.; Meltzer, H. The Novel Object Recognition Test in Rodents in Relation to Cognitive Impairment in Schizophrenia. *Curr. Pharm. Des.* **2014**, *20*, 5104–5114, doi:10.2174/1381612819666131216114240.
96. Khan, K.M.; Collier, A.D.; Meshalkina, D.A.; Kysil, E. V.; Khatsko, S.L.; Kolesnikova, T.; Morzherin, Y.Y.; Warnick, J.E.; Kalueff, A. V.; Echevarria, D.J. Zebrafish Models in Neuropsychopharmacology and CNS Drug Discovery. *Br. J. Pharmacol.* **2017**, *174*, 1925–1944, doi:10.1111/BPH.13754.
97. Langova, V.; Vales, K.; Horka, P.; Horacek, J. The Role of Zebrafish and Laboratory Rodents in Schizophrenia Research. *Front. Psychiatry* **2020**, *11*, 549232, doi:10.3389/FPSYT.2020.00703/BIBTEX.
98. Gerlai, R. Fish in Behavior Research: Unique Tools with a Great Promise! *J. Neurosci. Methods* **2014**, *234*, 54–58, doi:10.1016/j.jneumeth.2014.04.015.
99. Meltzer, H.Y. Clozapine: Balancing Safety with Superior Antipsychotic Efficacy. *Clin. Schizophr. Relat. Psychoses* **2012**, *6*, 134–144.