

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Др Татјана П. Николић

**УТИЦАЈ АНТИПСИХОТИКА НА  
КОШТАНО ТКИВО И ХИПОТАЛАМО-  
ХИПОФИЗНО-АДРЕНАЛНУ ОСОВИНУ  
У ФЕНЦИКЛИДИНСКОМ АНИМАЛНОМ  
МОДЕЛУ СХИЗОФРЕНИЈЕ**

Докторска дисертација

Београд, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
SCHOOL OF MEDICINE

Dr Tatjana P. Nikolić

**EFFECTS OF ANTIPSYCHOTICS ON  
BONE MASS AND HYPOTHALAMO-  
PITUITARY-ADRENAL AXIS IN  
PHENCYCLIDINE ANIMAL MODEL OF  
SCHIZOPHRENIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

## **ПОДАЦИ О МЕНТОРИМА И ЧЛАНОВИМА КОМИСИЈЕ**

**Ментор 1: Проф. др Наташа Петронијевић**, редовни професор, Институт за медицинску и клиничку биохемију, Медицински факултет, Универзитет у Београду

**Ментор 2: Проф. др Милан Петронијевић**, редовни професор, Клиника за реуматологију, Војномедицинска академија, Универзитет одбране у Београду

### **Чланови комисије:**

1. Проф. др Александра Исаковић, редовни професор, Институт за медицинску и клиничку биохемију, Медицински факултет, Универзитет у Београду
2. Проф. др Јелена Сопта, ванредни професор, Институт за патологију, Медицински факултет, Универзитет у Београду
3. Доц. др Бојана Стаменковић, доцент, Институт за лечење и рехабилитацију „Нишка Бања“, Медицински факултет, Универзитет у Нишу

*Захваљујем се*

*Проф. др Наташи Петронијевић, свом ментору, због сталне бриге за мој слободан и целовит научни раст и развој, због богатства и племенитости духа, због времена које ми је несебично даривала, постала интегрални део мог личног развоја и оплеменила мој унутрашњи свет. Хвала Вам што сте заједно са мном прешли пут „од трња до звезда“.*

*Проф. др Милану Петронијевићу, свом коментору, на оптимизму, непроцењивим стручним саветима и подрици у реализацији овог истраживања.*

*Академику проф. др Владимиру Бумбаширевићу, на несебичној људској и стручној подрици. Хвала Вам што сте разумели и омогућили остварење моје потребе за даљим научним усавршавањем.*

*Доц. др Невени Радоњић, која је од првог дана веровала у мене, која ме је увела у свет експеримената, несебично преносила своје знање и искуство и постала пријатељ за цео живот.*

*Доц. др Милану Аксићу и доц. др Бранки Марковић, на ведрини и искреном пријатељству. Хвала што сте били уз мене у најтежим тренуцима израде ове тезе, али пре свега у оним животним.*

*Члановима Комисије проф. др Александри Исаковић, проф. др Јелени Сопти и доц. др Бојани Стаменковић на драгоценим саветима, поверењу и подрици.*

*Својим колегама - др Милицы Велимировић, др Тихомиру Стојковићу, др Гордани Јевтић Дожудић, др Милицы Живковић и медицинском техничару Марку Бошковићу на несебичној подрици, помоћи и пријатељској атмосфери током мог истраживачког рада.*

*Свим члановима Института за медицинску и клиничку биохемију Медицинског факултета у Београду, на указаној дугогодишњој подрици, поверењу и пријатељској атмосфери.*

*Мојим родитељима и сестри на огромној љубави, подрици и вери у мој успех. Мојој свекрви на пожртвованости, снази и оптимизму које ми је преносила.*

*Мом супругу Зорану на неизмерном разумевању, љубави, храбрости и стрпљењу да дели са мном „добро и зло“.*

*Мојим највећим љубавима, мојим синовима Вељку и Богдану, којима је ова докторска дисертација посвећена.*

# УТИЦАЈ АНТИПСИХОТИКА НА КОШТАНО ТКИВО И ХИПОТАЛАМО-ХИПОФИЗНО-АДРЕНАЛНУ ОСОВИНУ У ФЕНЦИКЛИДИНСКОМ АНИМАЛНОМ МОДЕЛУ СХИЗОФРЕНИЈЕ

## Резиме

**Увод:** Схизофренија је веома тешко, хронично неуропсихијатријско обољење које погађа око 1% светске популације. Психотични поремећаји обухватају три главне категорије симптома: позитивне симптоме (делузије и халуцинације), негативне симптоме (слаба мотивација, редукција спонтаног говора, повлачење из социјалног окружења), и когнитивну дисфункцију (потешкоће у извршним функцијама, постојање поремећаја радне меморије и немогућност одржавања пажње). Антипсихотици чине основ лечења схизофреније и често је дуготрајна примена ових лекова неопходна у терапији болести. Нажалост, дугорочни третман антипсихотикима је често повезан са смањеном минералном коштаном густином (енгл. *bone mineral density*, BMD), повећаним ризиком за настанак фрактура и метаболичким променама. Остеопороза је метаболичка, дегенеративна болест костију коју карактерише губитак коштане масе, смањена чврстина костију, значајно смањена минерална коштана густина, фрагилност пршљенова и осталих костију, преломи и нарушена коштана микроархитектура. Такође, код оболелих од схизофреније показани су поремећај хипоталамо-хипофизно-адrenalне (енгл. *hypothalamic-pituitary-adrenal*, HPA) осовине, повећање секреције глукокортикоида, као и смањена експресија глукокортикоидног рецептора у кортексу и хипокампусу. Тачан механизам којим антипсихотици доводе до промена у телесној тежини, промена квалитета костију као и поремећаја метаболизма још увек није довољно познат. Такође, још увек није разјашњено да ли се сама болест карактерише запаженим променама или начин живота оболелих (пушење, седентарни начин живота, исхрана, недостатак витамина Д) заједно са третманом антипсихотикима доводе уочених промена. Фенциклидин (енгл. *phencyclidine*, PCP) је некомпетитивни антагонист глутаматских N-metil-D-aspartat

(NMDA) рецептора и његова перинатална администрација у пацова представља анимални модел шизофреније.

**Циљ:** Циљ овог истраживања је био испитавање утицаја примене антипсихотика код пацова перинатално третираних фенциклидином на коштану густину и структуру кости, телесни састав, активност НРА осовине, метаболичке параметре и концентрацију интерлеукина.

**Материјал и методе:** Шест група експерименталних животиња је било субкутано третирано 2, 6, 9, и 12-ог постнаталног (енгл. *postnatal*, PN) дана фенциклидином (10 mg/kg РСР, три групе) или физиолошким раствором (0,9% NaCl, три групе). Од PN35 до PN100 једна NaCl и РСР група су почеле да примају халоперидол (1 mg/kg/ дан; NaCl-Н, РСР-Н групе), једна NaCl и РСР група су почеле да примају клозапин (20 mg/kg /дан; NaCl-С, РСР-С група), растворене у води за пиће. Преостала NaCl (контролна) и РСР група је добила воду за пиће. BMD, минерални садржај костију (енгл. *bone mineral content*, BMC), количина масног ткива и удео мишићне масе су измерени 60. и 98. PN дана *in vivo* методом двоструке апсорпциометрије X-зрака (енгл. *dual energy X-ray absorptiometry*, DXA), као и телесна тежина. Животиње су жртвоване PN100. Ретроперитонеално и периепидидимално масно ткиво је измерено након жртвовања животиња. Фемури су издвајани методом дезартикулације у зглобу кука, а патохистолошка анализа фемура је урађена помоћу светлосне микроскопије. Експресије GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 и 11 $\beta$ -HSD1 су одређиване техником *Western blot*-а у кортексу, хипокампусу, таламусу и нуклеус каудатусу. Концентрације кортикостерона, пролактина, IL-6 и TNF- $\alpha$  су одређиване у серуму пацова коришћењем комерцијалних ELISA китова. Концентрације глукозе, холестерола и триацилглицерола су одређиване спектрофотометријски.

**Резултати:** Перинатална примена фенциклидина доводи до значајног смањења BMD и посебно BMC и до оштећења квалитета костију. Код здравих животиња (перинатално третираних NaCl-ом) показано је смањење BMD и BMC код мужјака пацова третираних халоперидолом, док клозапин није изазвао промену ових параметара. Третман халоперидолом је у групи РСР перинатално третираних пацова повезан са даљим смањењем густине костију која је већ значајно смањена

у РСР групи животиња које нису добијале антипсихотике. Са друге стране, третман клозапином није узроковао даље погоршање ВМД и ВМС у поређењу са РСР перинатално третираним пацовима, напротив, патохистолошком анализом фемура помоћу светлосне микроскопије уочен је скроман протективни ефекат овог лека на кости животиња, у виду веће површине и ширине гредица код ових јединки у поређењу са NaCl и РСР животињама. Перинатална примена фенциклидина не утиче на телесну тежину пацова. Примена халоперидола је, међутим, праћена смањењем телесне тежине, али само у групи животиња перинатално третираних фенциклидином, док је примена клозапина праћена повећањем телесне тежине у групи која је перинатално примала NaCl. Примена антипсихотика, посебно клозапина, узроковала је прерасподелу масног ткива. Резултати наше студије су показали да перинатална примена фенциклидина нема дугорочне ефекте на базалну концентрацију кортикостерона у серуму, али значајно повећава експресију GR и/или pGR и утиче на експресију одговарајућих шаперона у мозгу, указујући на повећану реактивност GR сигналног система у свим испитиваним структурама мозга експерименталних животиња, осим у хипокампусу где промене упућују на смањену осетљивост. У нашој студији је показано да третман халоперидолом не изазива промене у концентрацији кортикостерона у серуму без обзира на перинатални третман животиња, али је примена халоперидола праћена смањењем сензитивношћу GR сигналног система у мозгу, која се манифестује смањењем експресије активног pGR, повећањем експресије инхибиторног шаперона HSP70 и смањењем експресије стабилишућих шаперона HSP90 и FKBP51. У свим испитиваним структурама мозга халоперидол доводи до повећања експресије GR и HSP70 и смањења експресије pGR и FKBP51 и у NaCl и у РСР перинатално третираним групама у поређењу са контролном и са РСР групом, осим у хипокампусу где су запажене сличне промене свих испитиваних протеина укључених у GR сигнални систем осим експресије GR која је у овој структури била смањена. Третман клозапином узрокује вишеструко повећање концентрације кортикостерона у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином (РСР-С група) у односу на контролу и у односу на РСР групу. Ово повећање, и поред промена GR, pGR и шаперона у мозгу које су сличне променама запаженим после третмана халоперидолом, указује на

присуство поремећаја НРА осовине код пацова перинатално третираних фенциклидином који су примали клозапин. У нашој студији, третман клозапином смањује активност рецептора у испитиваним структурама мозга, узрокујући смањену експресију GR, pGR и FKBP51, а истовремено повећава експресију HSP70. Резултати нашег истраживања показали су да на концентрацију пролактина у серуму не утичу ни фенциклидин ни третман антипсихотицима. Перинатална примена фенциклидина узрокује значајно смањење концентрације IL-6 док на концентрацију TNF- $\alpha$  у серуму нема утицај. Примена халоперидола није праћена променама концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$  ни код животиња перинатално третираних NaCl-ом ни фенциклидином у поређењу са контролним групама, док третман клозапином проузрокује значајно повећање TNF- $\alpha$  у односу на контролну групу, без обзира на перинатални третман. Резултати наше студије су показали да перинатална примена фенциклидина узрокује статистички значајно смањење концентрације глукозе и повећање концентрације холестерола у серуму. Примена халоперидола и клозапина не утиче на концентрацију глукозе у серуму, али оба антипсихотика узрокују значајно повећање концентрације холестерола и смањење концентрације триацилглицерола без обзира на перинатални третман.

**Закључак:** Наши резултати указују да је вероватно сама болест одговорна за настанак промена на костима које се запажају код оболелих од схизофреније а да дуготрајна примена халоперидола доводи до погоршања, док је примена клозапина протективна. Такође, запажене промене на костима нису резултат поремећаја НРА осовине, као ни последица промене концентрације пролактина ни интерлеукина. Неопходна су даља истраживања у којима би се испитао директан утицај антипсихотика на коштану ткиво. С обзиром да је дуготрајна терапија антипсихотицима неопходна у лечењу оболелих од схизофреније, адекватно сагледавање њихових нежељених дејстава од изузетног је значаја за правилан терапијски приступ. Разумевање комплексности структуре глукокортикоидног рецептора, расветљавање процеса активације и преноса сигнала преко GR као и евалуација потенцијалних маркера за индивидуални ризик за настанак нежељених дејстава антипсихотика може допринети развоју нових терапијских мета и побољшању клиничког исхода оболелих.



**Кључне речи:** схизофренија, фенциклидин, антипсихотици, коштана минерална густина, хипоталамо-хипофизно-адренална осовина, анимални модел

**Научна област:** Медицина

**Ужа научна област:** Молекуларна медицина

# EFFECTS OF ANTIPSYCHOTICS ON BONE MASS AND HYPOTHALAMO–PITUITARY–ADRENAL AXIS IN PHENCYCLIDINE ANIMAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA

## Abstract

**Introduction:** Schizophrenia (SCH) is a severe neuropsychiatric illness that affects about 1% of the population. Psychotic disorders include three main categories of symptoms: positive symptoms (delusions and hallucinations), negative symptoms (impaired motivation, reduction in spontaneous speech, social withdrawal), and cognitive impairment (problems with working memory, attention and executive functions). Antipsychotics are the basis for the treatment of schizophrenia and long-term treatment with antipsychotics is often required for disease control. Unfortunately, long-term treatment with antipsychotics is frequently associated with decreased bone mineral density (BMD), increased fracture risk and metabolic side effects. Osteoporosis is a metabolic degenerative disease characterized by decreased bone stiffness, as signified by low bone mineral density, vertebral or non-vertebral fragility fractures and disruption of bone microarchitecture. Also, dysregulation of hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis, increased glucocorticoid secretion, and reduced glucocorticoid receptor expression in the cortex and hippocampus are noticed in SCH patients. The exact mechanism by which antipsychotics cause changes in body weight, changes in bone quality as well as metabolic disorders is still not well known. Also, it is not clear whether the disease *per se* or a life style (smoking, sedentary, nutrition, vitamin D deficiency, etc) together with antipsychotics is the cause of observed bone and metabolic changes. Phencyclidine (PCP) acts as a non-competitive antagonist of glutamatergic N-methyl-D-aspartate receptors, and perinatal phencyclidine administration to rodents represents an animal model of SCH.

**Aim of this study:** The aim of this study is to assess the effects of antipsychotic treatment on bone density and bone structure, body composition, HPA axis activity, metabolic parameters and interleukin concentration in male rats perinatally treated with PCP.

**Material and methods:** Six groups of experimental animals were subcutaneously treated on 2<sup>nd</sup>, 6<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> postnatal day (PN), with either PCP (10 mg/kg, PCP, three groups) or saline (0.9% NaCl, three groups). From PN35 to PN100, one NaCl and PCP group (NaCl-H and PCP-H) have received haloperidol (1 mg/kg/day) and one NaCl and PCP group (NaCl-C and PCP-C) received clozapine (20 mg/kg/day) dissolved in drinking water. The remaining NaCl (control) and PCP groups received clear drinking water. BMD, bone mineral content (BMC), amount of fatty tissue and muscle mass fraction were measured on PN60 and PN98 *in vivo* by dual X-ray absorptiometry (DXA), as well as body weight. Retroperitoneal and periepididymal fat tissue were measured after animal were sacrificed. Femurs were isolated by the method of disarticulation in the joint of the hip, and the pathohistological analysis of the femur was analysed by light microscopy. Expressions of GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 and 11 $\beta$ -HSD1 were determined by *Western blot* in cortex, hippocampus, thalamus, and nucleus kaudatus. Concentrations of corticosterone, prolactin, IL-6 and TNF- $\alpha$  were measured in serum samples using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercially available kits. Glucose, cholesterol and triacylglycerol concentrations were measured in serum spectrophotometrically.

**Results:** Perinatal PCP administration causes a significant reduction of BMD and especially BMC as well as deterioration in bone quality. In healthy animals (perinatally treated with NaCl), reduction of BMD and BMC was observed in male rats treated with haloperidol, while clozapine did not cause changes of these parameters. The haloperidol treatment in PCP perinatally treated rats was related to the further deterioration of bone density that was already significantly decreased in PCP group without any antipsychotic medication. Treatment with clozapine, on the other hand, did not cause further deterioration of BMD and BMC in comparison to PCP perinatally treated rats, on the contrary, even modest protective effect of this drug was seen by microscopic examination in animals, in the form of increased trabecular area and trabecular thickness in these rats in comparison to NaCl and PCP animals. Perinatal PCP administration did not affect body weight of animals. Treatment with haloperidol was, however, followed by weight reduction, but only in the group of animals perinatally treated with PCP, while treatment with clozapine was accompanied by an increase in body weight in a group that perinatally received NaCl. The use of antipsychotics,

especially clozapine, caused the redistribution of fatty tissue. The results of our study shown that perinatal PCP administration had no long-term effects on baseline corticosterone concentrations in serum, but significantly increased the expression of GR and/or pGR and affected the expression of appropriate chaperones in the brain, indicating increased reactivity of the GR signaling system in all investigated brain structures of experimental animals, except in the hippocampus where changes indicated reduced sensitivity. In our study, haloperidol treatment was not followed by significant changes of corticosterone concentration in serum, regardless of perinatal treatment, but the use of haloperidol was accompanied by decreased sensitivity of the GR signaling system in the brain, which was manifested by reduced expression of active pGR, increased expression of the inhibitory chaperone HSP70 and by reduced expression of stabilizing chaperones HSP90 and FKBP51. Haloperidol treatment leads to increased expression of GR and HSP70 and to reduced expression of pGR and FKBP51 both in NaCl and PCP perinatally treated groups compared to control and PCP group in all investigated brain structures, except in the hippocampus where similar changes of all the investigated proteins involved in GR signaling system were observed except for GR expression which was reduced in this structure. Treatment with clozapine caused a highly significant increase of corticosterone level in serum of rats perinatally treated with PCP (PCP-C group) compared to both control and PCP group. This increase, despite changes in GR, pGR and brain chaperones, similar to changes observed after treatment with haloperidol, indicated the presence of HPA axis dysregulation in rats perinatally treated with PCP receiving clozapine treatment. In our study, treatment with clozapine reduced the activity of receptors in investigated brain structures, causing the reduction of GR, pGR and FKBP51 expression, and at the same time increased the expression of HSP70. The results of our study showed that the levels of prolactin in the serum were not affected by either PCP or antipsychotic treatment. Perinatal PCP administration causes a significant decrease of IL-6 concentration while there was no effect on serum levels of TNF- $\alpha$ . Treatment with haloperidol was not followed by significant changes of IL-6 and TNF- $\alpha$  regardless of perinatal treatment compared to control groups, while clozapine caused significant elevation of TNF- $\alpha$  compared to control group, regardless of perinatal treatment. The results of our study showed that perinatal PCP administration causes a statistically significant decrease of glucose

concentration and an increase of cholesterol concentration in serum. The use of haloperidol and clozapine did not affect the serum glucose concentration, but both antipsychotics cause a significant increase in cholesterol and a decrease in the concentration of triacylglycerol, regardless of perinatal treatment.

**Conclusion:** Our results indicate that the disease itself is probably responsible for the emergence changes in bones observed in patients with schizophrenia, and that long-term treatment with haloperidol leads to deterioration while the use of clozapine is protective. Also, the observed bone changes are not the result of HPA axis dysregulation, nor the consequence of a change in prolactin or interleukins concentration. Further research is needed in order to examine the direct effects of antipsychotics on bone tissue. Given that long-term treatment with antipsychotics is often required for disease control, adequate consideration of their adverse effects is of great importance for a proper therapeutic approach. Understanding the complexity of the glucocorticoid receptor structure, clarifying the activation and signaling process through the GR, and evaluating potential markers for individual risk for the occurrence of adverse effects of antipsychotics can contribute to the development of new therapeutic targets and the improvement of the clinical outcome of patients.

**Keywords:** schizophrenia, phencyclidine, antipsychotics, bone mineral density, hypothalamo–pituitary–adrenal axis, animal model

**Scientific field:** Medicine

**Specific scientific field:** Molecular medicine

# Садржај

<b>1. УВОД</b> .....	1
1.1. Схизофренија .....	1
1.1.1. Клиничка презентација, знаци и симптоми .....	1
1.1.2. Поремећај неуротрансмитерских система у схизофренији - хипотезе о настанку схизофреније.....	2
1.1.2.1. Допаминска хипотеза .....	2
1.1.2.2. Хипотеза о NMDA рецепторској хипофункцији .....	3
1.1.2.3. Неуроразвојна хипотеза .....	6
1.1.3. Фактори који учествују у патогенези схизофреније .....	7
1.1.3.1. Генетски фактори .....	7
1.1.3.2. Перинатални и фактори раног детињства .....	8
1.1.3.3. Фактори животне средине .....	9
1.1.3.4. Улога запаљења у патогенези схизофреније.....	11
1.1.4. Терапија схизофреније - дејство антипсихотика .....	12
1.1.5. Анимални модели у психијатрији .....	14
1.1.6. Фенциклидин - опште карактеристике .....	16
1.1.6.1. Фенциклидински анимални модел схизофреније.....	17
1.2. Остеопороза.....	19
1.2.1. Механизми настанка остеопорозе у схизофренији.....	21
1.3. Хипоталамо-хипофизно-адренална (HPA) осовина.....	24
1.3.1. Глукокортикоидни рецептор .....	25
1.3.2. Метаболизам кортикостерона .....	29
1.3.3. Поремећај HPA осовине у схизофренији.....	30
<b>2. ЦИЉЕВИ</b> .....	32
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ</b> .....	33
3.1. Експерименталне животиње .....	33
3.2. Третирање животиња .....	33
3.3. Експерименталне групе .....	34
3.4. Одређивање параметара коштане масе и телесног састава <i>in vivo</i> методом DXA .....	35
3.5. Жртвовање животиња и издвајање ткива .....	35
3.6. Патохистолошка анализа фемура помоћу светлосне микроскопије .....	36
3.7. Одређивање експресије протеина техником Western blot-а .....	36

3.8. Одређивање концентрације кортикостерона и пролактина.....	37
3.9. Спектрофотометријско одређивање концентрације глукозе, холестерола и триацилглицерола.....	38
3.10. Одређивање концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$ .....	39
3.11. Статистичка анализа.....	39
<b>4. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	<b>40</b>
4.1. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на коштану масу и структуру кости, телесни састав и дистрибуцију масног ткива код мужјака пацова.....	40
4.1.1. Утицај примене халоперидола и клозапина на BMD мужјака пацова .....	40
4.1.2. Утицај примене халоперидола и клозапина на BMC мужјака пацова.....	42
4.1.3. Утицај примене халоперидола и клозапина на количину масног ткива мужјака пацова одређивану DXA-ом.....	44
4.1.4. Утицај примене халоперидола и клозапина на удео мишићне масе мужјака пацова одређиван DXA-ом .....	46
4.1.5. Утицај примене халоперидола и клозапина на структуру кости мужјака пацова.....	48
4.1.6. Утицај примене халоперидола и клозапина на телесну тежину и дистрибуцију масног ткива мужјака пацова.....	51
4.2. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на НРА осовину одређивањем експресије GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 и 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу, хипокампусу, таламусу и нуклеус каудатусу мозга пацова као и одређивањем нивоа кортикостерона .....	53
4.2.1. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу .....	53
4.2.2. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у хипокампусу .....	60
4.2.3. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у таламусу.....	66
4.2.4. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у нуклеус каудатусу.....	72
4.2.5. Концентрација кортикостерона у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином.....	78
4.3. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију пролактина, глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова .....	79
4.3.1. Концентрација пролактина у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином.....	79

4.3.2. Концентрација глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином .....	79
4.4. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију IL-6 и TNF- $\alpha$ .....	81
4.4.1. Концентрација IL-6 у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином .....	81
4.4.2. Концентрација TNF- $\alpha$ у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином .....	82
<b>5. ДИСКУСИЈА</b> .....	<b>83</b>
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ</b> .....	<b>104</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА</b> .....	<b>107</b>



# 1. УВОД

## 1.1. Схизофренија

Схизофренија (енгл. *schizophrenia*, SCH) је веома тешко, хронично неуропсихијатријско обољење које погађа око 1% светске популације (Crow, 1995; van Os и Karic., 2009). Два највећа изазова у помоћи оболелима представљају разумевање узрока и патогенезе поремећаја, и развој нових, ефикасних и прихватљивих третмана болести.

Нова генерација лекова и напредак у неуропатологији, имицингу мозга и молекуларној генетици утицали су на боље разумевање патофизиологије схизофреније и на бољи третман оболелих. Без обзира на то, схизофренија и даље остаје загонетна болест која значајно оптерећује не само пацијенте, већ и њихове породице и друштво (Freedman, 2003).

### 1.1.1. Клиничка презентација, знаци и симптоми

Психотични поремећаји обухватају три главне категорије симптома: позитивне симптоме, негативне симптоме и когнитивну дисфункцију. Позитивни симптоми обухватају делузије, халуцинације, сумануте идеје, поремећаје мишљења и представљају симптоме у којима је изгубљен контакт са стварношћу. У негативне симптоме се убрајају пре свега губитак мотивације а затим редукција спонтаног говора и повлачење из социјалног окружења. Когнитивна дисфункција се манифестује потешкоћама у извршним функцијама, постојањем поремећаја радне меморије и немогућношћу одржавања пажње (Joусе и Roiser, 2007, Meyer и Feldon, 2010). Схизофренију карактерише акутна фаза са доминацијом позитивних симптома праћена фазама ремисије психоза где су негативни симптоми болести доминантни.

Негативни и когнитивни симптоми имају тенденцију да буду хронични и повезани су са дугорочним ефектима на друштвену функцију. Прва епизода психозе се обично јавља у касној адолесценцији или раном одраслом добу, али често јој претходи продромална фаза (Lieberman и сар., 2001; Addington и Heinssen, 2012). У неким случајевима, преморбидна оштећења у спознаји или

социјалном функционисању, или обоје, могу се манифестовати много година пре прве психотичне епизоде (Lewandowski и сар., 2011), док је код неких пацијената почетак болести изненадан.

### **1.1.2. Поремећај неуротрансмитерских система у схизофренији - хипотезе о настанку схизофреније**

Схизофренија је обољење које се карактерише комплексном променом више неуротрансмитерских система за које се сматра да учествују у етиопатогенези болести. Предложено је неколико неурохемијских и неуропатолошких теорија које објашњавају патолошке процесе у схизофренији, укључујући поремећаје у допаминергичкој (Carlsson, 1988), глутаматергичкој (Kim и сар., 1980; Olney и Farber, 1995a,b) и GABA-ергичкој сигнализацији (Koran, 1976; Lewis и сар., 2005), затим поремећај функције префронталног кортекса (Ingvar и Franzén, 1974; Wolkin и сар., 1985; Andreasen и сар., 1986), аберантни неуроразвој (Weinberger, 1987; Murray и Lewis, 1987), преосетљивост на стрес (Zubin и Spring, 1977) и варијације у инфламаторном одговору (Lin и сар., 1998; Rothermundt и сар., 2001).

#### **1.1.2.1. Допаминска хипотеза**

Међу првим неуротрансмитерима који су привукли пажњу истраживача био је допамин, обзиром да антипсихотици, лекови који се користе у терапији схизофреније, показују висок афинитет за допаминске D2 рецепторе. Хипотеза допаминергичке дисфункције заснива се на хиперактивности допамина у лимбичком систему (Laguette и сар., 1999), те су повећана синтеза допамина и повишен ниво D2 рецептора у корелацији са тежином позитивних симптома у схизофренији (Kessler и Woodward, 2009), а антипсихотици блокадом рецептора смањују допаминергичну неуротрансмисију и ублажавају ове симптоме (Davis и сар., 1991), те пацијенти истовремено доживљавају пад интензитета халуцинација и делузија и боље управљају својим понашањем.

Међутим, допаминска хипотеза схизофреније има неколико мана. Прво, блокада допаминергичке неуротрансмисије не доводи до побољшања негативних симптома и когнитивне дисфункције. Друго, иако су позитивни симптоми

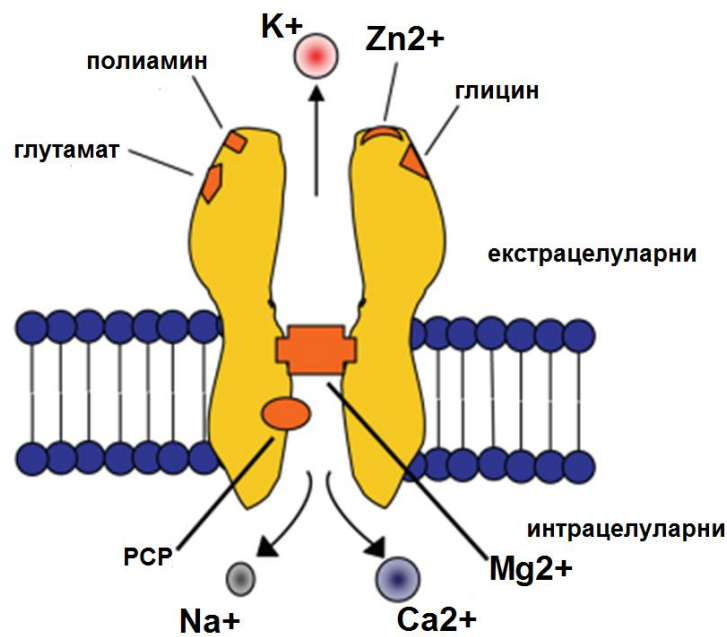
схизофреније смањени када је допаминергичка неуротрансмисија смањена услед примене антипсихотичних лекова, нивои метаболита допамина и рецептора, када се мере код пацијената пре и после лечења, су и даље унутар широког опсега референтних вредности (Pickar и сар., 1986; Farde и сар., 1986). Треће, улога допамина у мозгу је доста сложена. Наиме, код великог броја особа оболелих од схизофреније уочена је повећана засићеност рецептора у базалним ганглијама допамином током акутних психотичних епизода, што је измерено помоћу компјутеризоване томографије (Abi-Dargham и сар., 2000). Даље, смањена допаминергичка активност у церебралном кортексу фронталног режња такође може бити један од фактора који доприносе когнитивном оштећењу које се обично виђа код особа са схизофренијом (Castner и сар., 2000). Такође, на допаминергички дисбаланс утичу и други системи неуротрансмисије: глутаматергички, серотонинергички, ГАВА-ергички, и сва три система неуротрансмисије међусобно су повезана преко екстрапирамидног кортико субкортикалног круга: префронтални кортекс-стријатум-таламус префронтални кортекс (Jašović Gašić и Marić, 2010).

#### **1.1.2.2. Хипотеза о NMDA рецепторској хипофункцији**

Једна од данас актуелних хипотеза о настанку схизофреније је и хипотеза о N-metil-D-aspartat (NMDA) рецепторској хипофункцији (Javitt и Zukin, 1991; Olney и Farber, 1995a,b; Tamminga, 1998). Наиме, велику пажњу истраживача привукао је глутамат, главни ексцитаторни неуротрансмитер, који се налази на више од половине можданих синапси и који има значајну улогу у неуроразвоју као и у модулацији можданих функција током живота. Глутамат своје дејство у мозгу остварује путем јонотропних (глутамат-зависних јонских канала) и metabotropних рецептора. NMDA рецептори припадају јонотропним рецепторима и имају централну улогу у многим биолошким функцијама укључујући неуропротекцију, неуродегенерацију, дугорочну потенцијацију (енгл. *long term potentiation*), памћење и неурогенезу (Waterhouse, 2003). Такође, представљају главну терапијску мету у психијатријским обољењима. Широко су распрострањени у централном нервом систему а нарочито у префронталном кортексу, лимбичком систему и таламусу, оним можданим структурама у којима

су уочене највеће абнормалности код особа оболелих од шизофреније (Bogerts, 1999; Shenton и сар., 2001).

NMDA рецептор поред једновалентних катјона  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  допушта и пролаз  $\text{Ca}^{2+}$  кроз јонски канал по чему се разликује од осталих глутаматних јонотропних рецептора. Услед овога, ексцитаторни постсинаптички потенцијал који је настао као последица активације NMDA рецептора доводи до повећања концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  у постсинаптичком неурону, а затим  $\text{Ca}^{2+}$  као секундарни гласник активира унутарћелијске сигналне каскаде. NMDA рецептори такође везују и ванћелијски  $\text{Mg}^{2+}$  који блокира улаз NMDA рецепторског канала када ћелијска мембрана има потенцијал мировања, и који се уклања тек након деполаризације мембране. Осим места за везивање глутамата, NMDA рецептори поседују везујућа места за глицин и D-серин. Сам глицин не узрокује отварање канала, али учествује у регулацији његовог отварања (Johnson и Archer, 1987). Такође, NMDA рецепторски комплекс садржи регулаторна места за полиамине,  $\text{Zn}^{2+}$  и оксидо-редукционе агенсе, као што је глутатион (Waterhouse, 2003). Фенциклидин, антагониста NMDA рецептора, се везује за место унутар јонског канала које је једино доступно када је канал отворен односно када се глутамат већ везао за NMDA рецептор (Tsai и Coyle, 2002; Waterhouse, 2003).



**Слика 1.** Схематски приказ NMDA рецептора. Преузето и модификовано из: Longone, P., di Michele, F., D'Agati, E., Romeo, E., Pasini, A., Rupprecht, R., 2011. Neurosteroids as neuromodulators in the treatment of anxiety disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 19;2:55.

Значајно ниски нивои глутаматних рецептора (Konradi и Heckers, 2003) као и смањена концентрација глутамата у префронталном кортексу и хипокампусу оболелих од шизофреније у односу на здраве контроле (Tsai и сар., 1995) откривени су *post mortem* истраживањима. Такође, *post mortem* студије су показале абнормалности у експресији (Dracheva и сар., 2001) и фосфорилацији (Emamian и сар., 2004) NMDA рецептора у префронталном кортексу, можданом региону значајном за испољавање негативних симптома болести и когнитивну дисфункцију (Weinberger, 1988). Једињења која блокирају глутамат, као што су фенциклидин и кетамин, који припадају некомпетитивним антагонистима NMDA рецептора, могу да индукују симптоме и когнитивне поремећаје карактеристичне за шизофренију (Lahti и сар., 2001), што даје фармаколошку потврду улоге глутамата у шизофренији.

### 1.1.2.3. Неуроразвојна хипотеза

Према неуроразвојној хипотези основа самог обољења се ствара још у раним периодима развоја централног нервног система а поремећаји се испољавају у каснијим фазама живота када долази до преструктурисања система и елиминације неких синаптичких веза (Cotter и Pariente, 2002). По овој хипотези, интеракција између раних неуроразвојних поремећаја и периадолесцентног сазревања мозга мора бити неопходна како би се покренуо читав спектар психотичног понашања, које се обично појављује током адолесценције или у раном одраслом добу.

Неуроразвојна хипотеза је потврђена бројним студијама где је показано да појединци са високим ризиком од развоја схизофреније имају мања одступања у моторном, когнитивном и друштвеном развоју у односу на здраве контролне субјекте, посматрајући групу од малолетника до периадолесцента (Lewis и Levitt, 2002; Fish и Kendler, 2005; Rapoport и сар., 2005; Fatemi и Folsom, 2009). У поређењу са здравим контролним субјектима, високоризични појединци такође показују и повећану стопу постојања мањих физичких аномалија, укључујући присуство спуштених ушију, епиканталних очних набора, мале зубе и широк размак између првог и другог прста на ноzi (McGrath и сар., 1995; Murphy и Owen, 1996; Fearon и сар., 2001; Lloyd и сар., 2008; Rajchgot и сар., 2009). Постојања ових малих физичких аномалија се могу узети као суптилни индикатори поремећеног пренаталног развоја током првог триместра трудноће (Hollister и сар., 1995).

Неколико *post mortem* неуроанатомских студија је такође подржало неуроразвојну хипотезу. На пример, значајно повећање волумена бочне и треће коморе у мозгу особа са схизофренијом такође може одражавати поремећаје у раном развоју мозга обзиром да је присутно већ у раним фазама болести (Pfefferbaum и Zipursky, 1991; Gilmore и сар., 2001; Vita и сар., 2006; Pagsberg и сар., 2007; Mata и сар., 2009). Још један неуроанатомски знак који указује на абнормални развој феталног мозга је агенеза корпус калозума, која је значајно чешћа код особа са схизофренијом у поређењу са не-схизофреним субјектима (Downhill и сар., 2000; Walterfang и сар., 2008a, b).

Још једна значајна линија подршке неуроразвојној хипотези схизофреније изведена је из бројних епидемиолошких студија које су процењивале ефекте

пренаталног и/или перинаталног инсулта околине код постојања ризика од схизофреније. Многе епидемиолошке студије су показале да изложеност мајки различитим факторима животне средине током критичних стадијума трудноће значајно повећава ризик од настанка схизофреније у потомству. Као што је детаљније разматрано даље у тексту, овакви инсулти животне средине укључују изложеност мајке стресу у периоду гестације, инфекције и/или имунолошки одговор, нутритивну дефицијенцију и компликације на порођају (McDonald и Murray, 2000; Bresnahan и сар., 2005; Dean и Murray, 2005; Opler и Susser, 2005). Приметно, већина ових фактора животне средине делује на пренаталну или перинаталну фазу живота, односно током критичног периода раног развоја централног нервног система. Стога, ометањем нормалног раног развоја мозга, пренатална изложеност инсултима животне средине може довести до повећаног ризика од појаве схизофреније, променом неуроразвојних путања и самим тим предиспонирањем организма на дугорочне промене у каснијем развоју мозга и понашања, што је у складу са неуроразвојном хипотезом схизофреније, која наглашава критичну улогу раних можданих инсулта у развоју поремећаја (Meyer и Feldon, 2010).

### **1.1.3. Фактори који учествују у патогенези схизофреније**

У патогенези болести учествује низ генетских, развојних и социјалних фактора (Crow, 1995).

#### **1.1.3.1. Генетски фактори**

Бројне генетске епидемиолошке студије су показале да генетски фактори доприносе развоју схизофреније (Gottesman, 1991; Sullivan и сар., 2003). Међутим, процене о уделу наслеђа у развоју болести варирају због тешкоће у раздвајању генетских фактора од фактора окружења (O' Donovan, 2003). Највећи ризик од развоја схизофреније имају особе чији је најближи крвни сродник оболео од те болести. Такође, схизофренија је високо полигено обољење (Gottesman и Shields, 1967) и генетски ризик је веома плејотропан (тј. један ген или алел може да утиче на више наизглед неповезаних фенотипских особина) (Owen, 2012; Lee и сар.,

2013; Hamshere и сар., 2013; Kirov и сар., 2014). Сматра се да значајну улогу у настанку схизофреније могу имати следећи гени: неурегулин (енгл. *Neuregulin 1*, *Nrg1*), дисбиндин (енгл. *Dysbindin, dystrobrevin-binding protein 1*, *DTNBP1*), регулатор G протеин сигнала-4 (енгл. *Regulator of G protein signaling 4*, *RGS4*), оксидаза D-амино киселине (енгл. *D-amino acid oxidase*, *DAAO*), катехол-ометил трансфераза (енгл. *Catechol-O-methyltransferase*, *COMT*) (Crow, 2008). Такође, уочене су ретке мутације гена који кодирају низ синаптичних протеина, укључујући протеине пост-синаптичке густине и фамилију протеина волтажно-зависних калцијумских канала (Hall и Trent, 2015). Велика геномска студија Радне групе за схизофренију (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) такође имплицира заједничке варијације гена који кодирају глутаматне рецепторе, фамилију протеина волтажно зависних калцијумских канала и допамински рецептор D2, који је главни циљ антипсихотичних лекова. Однос између глутаматергичке дисфункције и абнормалности допаминског сигналинга могу помоћи у откривању начина којима се психоза и когнитивни дефицит јављају у схизофренији и сродним поремећајима (Owen и сар., 2016).

### **1.1.3.2. Перинатални и фактори раног детињства**

Проспективне студије су показале да одређени фактори у феталном периоду живота - укључујући хипоксију, инфекције мајке, стрес мајке и малнутрицију мајке - могу представљати ризик факторе за појаву схизофреније (Cannon и сар., 2002; Brown, 2006; Khashan и сар., 2008; Brown и Susser, 2008). Кохорте рођења и студије високог ризика дале су доследне доказе да, као група, деца код које ће кад буду одрасли бити дијагностикована схизофренија имају, у поређењу са својим вршњацима, већу инциденцу неспецифичних емотивних и поремећаја у понашању, као и психо-патолошких промена, интелектуалних и језичких алтерација и суптилних кашњења у моторном развоју (Woodberry и сар., 2008; Tarbox и сар., 2008; Welham и сар., 2009). Неки од ових развојних индикатора могу бити релевантни у диференцијалној дијагностици унутар мноштва дијагностичких категорија из разлога што су моторне и когнитивне промене специфичне за дијагнозу схизофреније (тј. нису забележене код биполарног поремећаја) (Cannon и сар., 2002; Reichenberg и сар., 2002; Zammit и сар., 2004).



### 1.1.3.3. Фактори животне средине

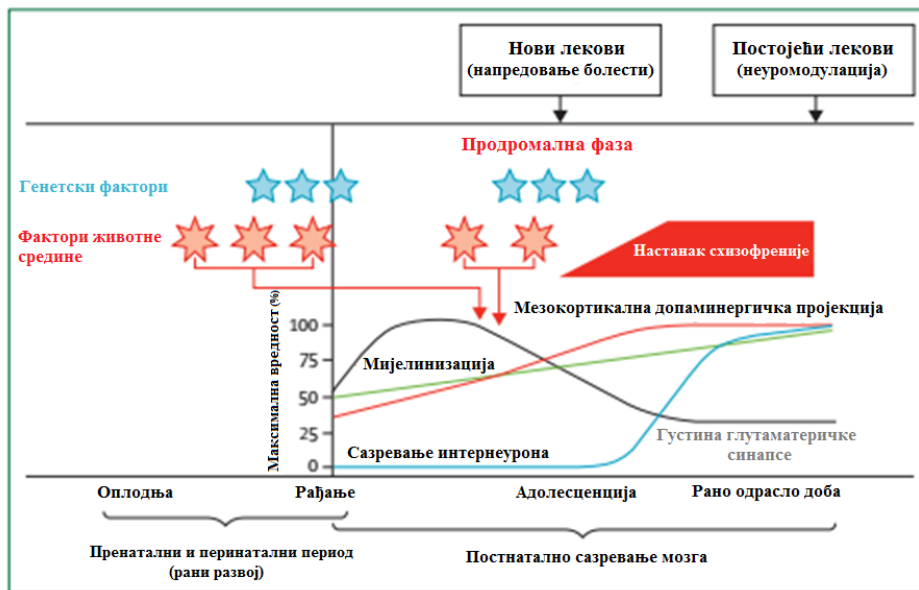
Неуроразвојна хипотеза је више од три деценије доминантна парадигма за разумевање утицаја животне средине у настанку схизофреније (Fatemi и Folsom, 2009). Ова хипотеза усмерава пажњу према утврђеним факторима ризика за настанак схизофреније који утичу на рани неуроразвој током трудноће, укључујући и претходно поменути стрес мајке (Khashan и сар., 2008), инфекције код мајки (Brown, 2012; Khandaker и сар., 2013), нутритивну дефицијенцију (McGrath и сар., 2010; Brown, 2012), интраутерини застој у расту и компликације трудноће и порођаја (Cannon и сар., 2003; Brown, 2011).

Међутим, социоекономски фактори (Burne и сар., 2004; Allardyce и Boydell, 2006; Paksarian и сар., 2015), тешко детињство (Varese и сар., 2012), и имиграције (прве и друге генерације) (Cantor-Graae и Selten, 2005; Cantor-Graae и Pedersen, 2013) такође су повезани са схизофренијом. Поред тога, висока стопа оболелих од схизофреније постоји код особа рођених крајем зиме или у рано пролеће (Davies и сар., 2003), код особа рођених или одраслих у градовима (Vassos и сар., 2012), и код особа са релативно старим очевима (40 година или старијим) или младим родитељима (испод 20 година старости) (Miller и сар., 2011; McGrath и сар., 2014). Употреба канабиса у адолесценцији, нарочито злоупотреба једињења са садржајем тетрахидроканабинола (Moore и сар., 2007; Radhakrishnan и сар., 2014) је још један значајан фактор. Такође, фактори као што су повреде главе (Orlovska и сар., 2014), епилепсија (Clancy и сар., 2014), аутоимунске болести (Benros и сар., 2014; Müller, 2014), и тешке инфекције (Benros и сар., 2011; Khandaker и сар., 2012; Nielsen и сар., 2014) су повезани са повећаним ризиком за развој схизофреније.

Систематични преглед епидемиолошких студија показао је да на стопу појаве схизофреније и сродних поремећаја утичу неки фактори животне средине (McGrath и сар., 2008; March и сар., 2008). Ризик од развоја схизофреније расте линеарно с обзиром на то колико је окружење у којем деца одрастају урбанизовано (Krabbandam и van Os, 2005). Такође, рандомизоване експерименталне студије су показале да излагање дронабинолу, главној психотропној компоненти канабиса, узрокује блага и пролазна психотична стања (D'Souza и сар., 2004; Morrison и сар., 2009) која појединце са већ постојећом

тенденцијом за психозом чине подложнијим него здраве контроле (D'Souza и сар., 2005; Henquet и сар., 2006).

Неколико генетских и ризик фактора средине може дугорочно утицати на неуроразвојни процес и довести до схизофреније. Поремећај се обично уочава када се прва епизода психозе јавља у касној адолесценцији или раном одраслом добу, али често му претходи продромална фаза; у неким случајевима, преморбидна оштећења у когницији или социјалном функционисању, или оба, виђена су много година пре појаве прве епизоде психозе. Претпоставља се да поремећаји настали деловањем подложних гена и фактора средине током раног развоја и адолесценције, могу ометати постнаталну матурацију мозга. Ови фактори вероватно оштећују неке од кључних процеса у раном развоју, укључујући пролиферацију прогениторних ћелија, миграцију неурона и дендритичну арборизацију. Независно од ових иницијалних ризика и инсульта, интринзички фактори повезани са болести могу такође директно утицати на постнаталну матурацију мозга.



**Слика 2.** Интеракција генетских и ризик фактора средине у развојној патологији шизофреније. Акумулација ових штетних инсульта има за последицу општи поремећај правилног постнаталног сазревања мозга, укључујући сазревавање интернеурона и допаминергичких пројекција и мијелинизацију. Матурација интернеурона је приказана као повећање интернеуронског одговора на D2 агонисте допамина у префронталном кортексу, док се мезокортикална допаминергичка пројекција базира на нивоима тирозин хидроксилазе. Приказани су релативни нивои густине глутаматергичке синапсе и мијелинизације. Преузето и модификовано из: Owen, M.J., Sawa, A., Mortensen, P.B., 2016. Schizophrenia. Lancet. 2, 388(10039), 86-97.

#### 1.1.3.4. Улога запаљења у патогенези шизофреније

Повезаност имунолошких поремећаја и шизофреније проучавана је деценијама уназад и још увек представља тему за расправу. Све је више доказа који сугеришу о постојању кључне улоге специфичних цитокина у сигнализацији мозгу да производи неурохемијске, неуроендокрине, неуроимуне и промене у понашању (Reale и сар., 2011). Цитокини су сигнални протеини имунског система који су укључени у важне функције мозга, као што су регулација расположења (McNamara и Lotrich, 2012), циклус спавање-будност (Weschenfelder и сар., 2012) и конзумирање хране (Ramos и сар., 2004). До сада, шизофренија је повезивана са измењеним нивоима разних цитокина и њихових солубилних рецептора, као што су интерлеукин (IL)-6, солубилни интерлеукин-6 рецептор (sIL-6R), интерлеукин-8 (IL-8), интерлеукин-10 (IL-10), интерлеукин-4 (IL-4), фактор некрозе тумора-

алфа (TNF- $\alpha$ ) (Frommberger и сар., 1997; Müller и сар., 1997; Maes и сар., 2002; O'Brien и сар., 2008). Повећане концентрације IL-6 су повезане са негативном феноменологијом, трајањем болести (Akiyama, 1999; Ganguli и сар., 1994), резистенцијом на терапију (Lin и сар., 1998) и неповољним током болести (Müller и сар., 2000). Такође, повећана концентрација IL-6 у серуму је примећена у акутној фази болести (Frommberger и сар., 1997), као и код пацијената са хроничном формом шизофреније (Akiyama, 1999; Zhang и сар., 2002). У неколико студија је показано повећање концентрације TNF- $\alpha$  код пацијената у егзацербацији шизофреније (Naudin и сар., 1997; Theodoropoulou и сар., 2001; O'Brien и сар., 2008), али, било је и другачијих резултата (Xu и сар., 1994). Посебно "збуњујући" фактори као што су старост, пушење, индекс телесне масе (*body mass index*-BMI), пол и инфекције такође имају утицај на ниво IL-6 и TNF- $\alpha$  (Naass и сар., 1999; Himmerich и сар., 2009). Надаље, бројне студије су показале да третман антипсихотика може утицати на ниво цитокина (Pollmächer и сар., 1996), и да би антипсихотици могли имати антиинфламаторне ефекте на микроглијалну активност, која је повишена у шизофренији (Monji и сар., 2009).

#### **1.1.4. Терапија шизофреније - дејство антипсихотика**

Антипсихотици чине основ лечења шизофреније и често је дуготрајна примена ових лекова неопходна у терапији болести. До данас је синтетисано преко 60 антипсихотика који су класификовани на типичне (антипсихотике 1. генерације) и атипичне (антипсихотике 2. генерације) (Tandon и сар., 2010). У типичне антипсихотике између осталог спадају, халоперидол, хлорпромазин и трифлуоперазин, а у атипичне клозапин, оланзапин и рисперидон (Seeman, 2002). Своје дејство антипсихотици остварују блокадом неуротрансмисије између допаминергичких неурона вентралног тегменталног подручја и неурона у лимбичком и кортикалном предњем делу мозга. Типични антипсихотици примарно инхибирају допаминергичке путеве блокирајући допаминске D2 рецепторе и често изазивају екстрапираמידалне симптоме и постуралну хипотензију услед блокаде допаминских рецептора у базалним ганглијама. У симптоме спадају дистонија, акатизија, брадикинезија и тремор. Код старијих пацијената постоји повећан ризик од прелома кука као резултат поремећаја

кретања узрокованог лековима. Тардивна дискинезија, хореоатетотични поремећај покрета, развија се код око 30 % пацијената, генерално након неколико година лечења (Gardos и сар., 1994). Типични антипсихотици су ефикасни у терапији позитивних симптома шизофреније али не побољшавају когнитивни дефицит као ни негативне симптоме. Атипични антипсихотици доминантно делују на серотонинске 5HT рецепторе, док је анти допаминергички ефекат слабији. Имају мању инциденцу јављања екстрапирамидалних нежељених ефеката у односу на типичне антипсихотике, побољшавају негативне симптоме и когнитивне поремећаје и врше превенцију релапса (Freedman, 2003; Miyamoto и сар., 2005; Tandon и сар., 2008; Nandra и Agius, 2012).

Код оболелих од шизофреније често се запажају поремећаји физичког здравља који се повезују са терапијом антипсихотика. Описани су поремећаји метаболизма костију (Rouwels и сар., 2009), нивоа глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму, повећање телесне тежине (Reid, 2008) као и повећан ризик од кардиоваскуларних болести (Ballon и сар., 2014). Тачан механизам којим антипсихотици доводе до промена у телесној тежини и поремећаја метаболизма још увек није довољно познат.

Клозапин је први синтетисани атипични антипсихотик који је јединствен због своје ефикасности у лечењу шизофрених пацијената резистентних на класичну терапију (Kane и сар., 1988; Alvir и сар., 1993; Tuunainen и сар., 2002; Miyamoto и сар., 2005). Овај антипсихотик пролази кроз крвно-мождану баријеру (Weigmann и сар., 1999) и има највећи афинитет за допаминске D4 рецепторе (Seeman и сар., 1997),  $\alpha 1$ - адренергичке, хистаминске H1 и мускаринске (Richelson and Souder, 2000), рецепторе. Клозапин има умерени афинитет за допаминске D2 (Seeman и сар., 1997), допаминске D1 (Farde и сар., 1989),  $\alpha 2$ - адренергичке (Richelson and Souder, 2000) и серотонинске 5-HT3 (Rammes и сар., 2004; Watling и сар., 1990) рецепторе. Нежељена дејства терапије клозапином су, између осталог, агранулоцитоза, епилептични напади и миокардитис (Gressier и сар., 2016).

Шизофренија се сматра неуроразвојним поремећајем. Међутим, присутни су и докази да је шизофренија прогресивно, а такође и потенцијално неуродегенеративно обољење. Као што је већ поменуто, антипсихотици врше

модулацију хемијске неуротрансмисије и на тај начин редукују симптоме болести, те је стога вероватно да имају улогу и у неуропротекцији и неуротоксичности (Gassó и сар., 2012). Поставља се питање да ли промене уочене у мозгу оболелих од шизофреније потичу од саме болести или су последица терапије антипсихотицима.

### **1.1.5. Анимални модели у психијатрији**

Анимални модели значајно доприносе испитивању механизма који се налазе у основи хуманих болести као и у осмишљавању нових третмана. Willner (1984) је извршио поделу анималних модела у психијатријским истраживањима на анималне моделе са:

- предиктивним валидитетом (процењује се само исход предвиђене радне хипотезе),
- очигледним валидитетом (процењује се феноменолошка сличност модела и самог обољења) и
- узрочним валидитетом (имају највиши степен верности и покушавају да опонашају психопатолошки узрок који се налази у основи обољења).

Спроведена су обимна истраживања како би се разумела биолошка основа шизофреније и њен почетак с циљем откривања молекуларних путева за нове клиничке интервенције. Објашњење механизма болести ограничено је на *post mortem* посматрања. Нажалост, једно од главних ограничења *post mortem* анализа јесте недостатак алата за разликовање молекуларних промена које су последица саме болести од дисрегулације која може настати услед употребе лекова који се користе за лечење шизофреније.

Процењено је да до сада постоји око двадесетак анималних модела шизофреније (Carpenter и Koenig, 2008), који такође могу да представљају обољење на три различита нивоа (Lipska и Weinberger, 2000):

- репродуковање индукујућег фактора (генетски дефицит и следствени патолошки процес),
- опонашање феномена (спектар симптома шизофреније) и
- предвиђање одговора на већ постојећу терапију (антипсихотици).

Репродуковање најизраженијих симптома шизофреније као што су халуцинације, илузије и неповезаност мишљења код глодара или примата је веома тешко. Међутим, могуће је извршити поређење клиничких симптома шизофреније са шизофренија-сличним понашањем животиња индукованим применом NMDA антагониста (Geyer и сар., 1984; Steinpreis, 1996; Moghaddam и сар., 1998; Jentsch, 1999):

**Табела 1.** Упоредни приказ клиничких симптома шизофреније са шизофренија-сличним понашањем животиња индукованим применом NMDA антагониста

<b>Клинички симптоми шизофреније</b>	<b>Бихејвиоралне промене на анималном моделу шизофреније</b>
Психотични симптоми	Повећање локомоторне активности
Стереотипно понашање	Понављане радње (њушкање, умивање)
Вулнерабилност на стрес	Промене у локомоторној активности и понашању узроковане стресом
Дефицит у процесовању информација	Дефицит препулсне инхибиције акустичког стартног надражаја
Поремећаји пажње	Дефицит у латентној инхибицији
Когнитивни дефицит	Поремећај у тестовима просторне меморије
Социјално понашање	Смањење контаката са непознатим партнерима

Када говоримо о испитивању дејства антипсихотика на анималним моделима, наилазимо на проблем дозирања лекова, обзиром на то да глодари имају бржи метаболизам те је полуживот лека 4-6 пута краћи него код људи (Кариг и сар., 2003). На пример, полуживот халоперидола (типичног антипсихотика) код глодара је 1,5 h док је код човека 12-36 h, док је полуживот клозапина (атипичног антипсихотика) код глодара такође 1,5 h а код човека 6-7h (Bezchlibnyk-Butler и Jeffries, 1999). Такође, доза лека се мора оптимизовати ради постизања стабилне концентрације у плазми. Из тог разлога се за хронично

третирање животиња користи антипсихотик растворен у води у коју се додаје сирћетна киселина која омогућава стабилну концентрацију раствореног лека (Terry и сар., 2005).

### 1.1.6. Фенциклидин - опште карактеристике

Фенциклидин (1-1-fenilcikloheksil piperidin, енгл. *phencyclidine*, PCP) је синтетски дисоцијативни анестетик који поседује одлична анестетичка и аналгетичка својства уз одсуство респираторне и циркулаторне депресије. Синтеза фенциклидина је започела двадесетих година прошлог века (Kotz и Merkel, 1926), а у употребу је пуштен 1963. године под називом *Sernyl*. Нажалост, врло брзо су до изражаја дошли његови негативни ефекти. Наиме, примећено је да код пацијената постоперативно долази до феномена буђења (енгл. *emergence phenomenon*), који се манифестује халуцинацијама, паранојом, дезоријентацијом, агитацијом, дезоријентисаним понашањем и поремећајем говора, услед чега се фенциклидин класификује у дисоцијативне анестетике (Morris и сар., 2005) и повлачи из хумане употребе. Међутим, остаје у употреби као илегални наркотик познат под именима *Angel dust*, *Hog* (Mozayani, 2003; Morris и сар., 2005).

Фенциклидин је слаба лиофилна база која лако пролази кроз ћелијске мембране и крвно мождану баријеру. Веома брзо се апсорбује после *per os* или парентералне примене. У организам се може унети инхалацијом, инсуфлацијом, у виду воденог раствора интравенски или субкутано, трансдермално, оралном, ректалном и вагиналном апсорпцијом. Брзина дејства зависи од начина администрације – интравенска администрација делује најбрже, након неколико секунди са достизањем максималне концентрације након 10 минута (Mozayani, 2003). Ефекти фенциклидина такође зависе и од унете дозе. Орални унос 2-6 mg фенциклидина доводи до халуцинација, летаргије, дезоријентације и губитка координације. Доза од 7,5 mg доводи до посртања при ходу и продуженом времену реакције на PCP. Анестезија и кома се јављају при оралној дози од 20 mg. Нистагмус настаје инхалацијом 2-5 mg, поремећај памћења и атаксија инхалацијом 7 mg, аналгезија инхалацијом 8-9 mg, а колапс и прострација при дози од 15 mg. Интравенска администрација ниских доза (0,8-1 mg) узрокује „*high*“ осећај код корисника који се наставља потпуном анестезијом при дози од



15 mg. Веома високе дозе (>50 mg) могу довести до епилептичког напада (Lundberg и сар., 1976; Mozayani, 2003).

У једнократној примени фенциклидин доводи до „токсичне психозе“ а вишекратним коришћењем се развија дуготрајнија схизофрена симптоматологија (Javitt и Zukin, 1991). За разлику од других психостимуланса, фенциклидин има способност да индукује и позитивне и негативне симптоме схизофреније као и когнитивну дисфункцију (Javitt и Zukin, 1991; Tamminga, 1998). Позитивни симптоми схизофреније који могу бити индуковани фенциклидином су халуцинације, параноја, делузије, импулсивност, неорганизованост мисли и насилно понашање (Javitt и Zukin, 1991). Негативни, фенциклидином узроковани симптоми су емотивна нестабилност и социјална изолација (Javitt, 1987; Jentsch и Roth, 1999). Фенциклидин опонаша и когнитивне аспекте схизофреније, укључујући и блокаду мисли, неправилну вербализацију и немогућност одржавања когнитивног сета (Luby и сар., 1959). Амфетамин, за разлику од фенциклидина, индукује само позитивне симптоме и чак ублажава негативне симптоме (Angrist, 1982; Goldberg, 1991). Због постојања велике сличности између симптома и искустава пацијената оболелих од схизофреније и симптома и искустава корисника фенциклидина као наркотика, фенциклидин добија значајно место у изучавању схизофреније (Morris и сар., 2005) и долази до развоја фенциклидинског анималног модела.

#### **1.1.6.1. Фенциклидински анимални модел схизофреније**

Покушаји разумевања узрочних механизма и идентификације биомаркера специфичних за психозу схизофреније довели су до развоја анималних модела (Jones и сар., 2011). Један од актуелних фармаколошких анималних модела ове болести је перинатална администрација РСР-а глодарима (Wang и сар., 2001; Radonјић и сар., 2010). РСР је некомпетитивни антагонист глутаматергичких NMDA рецептора. Обзиром да РСР изазива широк спектар симптома укључујући позитивне и негативне симптоме и когнитивну дисфункцију који подсећају на схизофренију (Beu и Patel, 2007), амфетамински анимални модел, који узрокује само позитивне симптоме, је изгубио на значају.

PCP анимални модели схизофреније се индукују: акутним третманом или хроничним третманом одраслих животиња као и перинаталним третманом новорођених јединки. Животиње се најчешће третирају током прве две недеље живота, у периоду који код глодара одговара трећем триместру трудноће код људи, односно у периоду у коме излагање вирусним и срединским факторима повећава вероватноћу за развој схизофреније у одраслом добу (Clancy и сар., 2001). Валидност ових анималних модела је показана бројним бихејвиоралним тестовима од којих је најзначајнији налаз оштећења препулсне инхибиције (PPI) акустичког надражаја (Geyer, 1984) који је карактеристичан за особе оболеле од схизофреније. Овај дефицит може говорити у прилог поремећају мишљења и когнитивној дисфункцији који су карактеристични за ову болест (Braff и Geyer, 1990). Рана перинатална примена фенциклидина доводи до промене у понашању пацова у адолесценцији (Nagai, 2003). Важно је напоменути да је овај модел у складу са неуроразвојном хипотезом и хипотезом о NMDA рецепторској хипофункцији.

Као што је раније поменуто, схизофренија се описује као неуроразвојни поремећај. Неуродегенерација у раним фазама развоја показана је након третмана PCP-ом у кортексу, хипокампусу и стријатуму, регионима мозга који су имплицовани у схизофренији (Ikonomidou и сар., 1999; Wang и Johnson, 2005, 2007). Поред тога, PCP третман 7. постнаталног дана (енгл. *postnatal*, PN), резултира неуродегенерацијом (позитивно бојење сребром) у фронталном кортексу, стријатуму и хипокампусу у року од 9 сати од третмана (Wang и Johnson, 2005, 2007). Такође, показано је да администрација PCP-а неонатусу доводи до аберантног понашања касније у развоју (Wang и сар., 2001; Beninger и сар., 2002), тачније, локомоторна сензитизација и дефицит PPI акустичког надражаја су уочени код пацова старих 24-28 PN дана третираних PCP-ом 7., 9. и 11 PN дана (Wang и сар., 2001).

Код животиња, перинатални PCP третман индукује дугорочне ефекте као што су повећање локомоторне активности (Wang и сар., 2001; McKibben и сар., 2016), когнитивна дисфункција (Andersen и Pouzet, 2004), оштећење сензоримоторног спровођења (Wang и сар., 2001, 2003) и поремећај базалне температуре (Radonjić и сар., 2008). Такође, перинатална примена фенциклидина

глодарима доводи до редукције нивоа глутатиона и ремећења антиоксидативне заштите (Radonjić и сар., 2010; Stojković и сар., 2012). Запажена је и редукција заступљености главних класа интернеурона у мозгу пацова (Radonjić и сар., 2013), као и структурне и функционалне промене митохондрија и измењени процеси апоптозе и аутофагије (Jevtić и сар., 2016). Поред тога, перинатална примена РСР-а изазива промене у експресији Неурегулин-1 (NRG-1), трофичког фактора важног за неуроразвој, неуротрансмисију и синаптичку пластичност у мозгу пацова (Radonjić и сар., 2013).

## 1.2. Остеопороза

Остеопороза је метаболичка, дегенеративна болест костију коју карактерише губитак коштане масе, смањена чврстина костију, значајно смањена минерална коштаност густина (енгл. *bone mineral density*, BMD), фрагилност пршљенова и осталих костију, преломи и нарушена коштаност микроархитектура (Wu и сар., 2013). Остеопенија је прекурсор ове болести, при чему је BMD нижа од очекиване у датом узрасту, али без постојања фрактура, или је BMD <2,5 стандардне девијације (SD) испод просечне вредности. Остеопороза и последичне фрактуре погађају око 200 милиона људи и представљају озбиљан проблем јавног здравља због повезаног морталитета, морбидитета, неспособности и смањеног квалитета живота (Kanis и сар., 2013). Остеопороза има комплексну патогенезу и мултифакторијалну етиологију. Неколико фактора ризика, укључујући менопаузу, смањену масу костију, старост, пушење, недостатак калцијума, смањену физичку активност и терапију кортикостероидима су укључени у развој остеопорозе (National Institutes of Health, 2000).

Дијагноза остеопорозе се може поставити на основу присуства типичних прелома или мерењем коштане густине остеодензитометријом. Метода двоструке апсорпциометрије X-зрака (енгл. *dual energy X-ray absorptiometry*, DXA) представља „златни стандард“ за процену BMD због велике прецизности и мале дозе радијације (International Osteoporosis Foundation, 2015). Клинички најрелевантнија DXA мерења су мерења лумбалне кичме, проксималног фемура и дисталног радијуса јер представљају места најподложнија фрактурама (Lupsa и

Insogna, 2015). BMD се може изразити као апсолутна вредност ( $\text{g/cm}^2$ ). Међутим, клинички је значајније да се одреди помоћу два скорa добијена DXA мерењем (Bernabei и сар., 2014; Peuskens и сар., 2014):

- Т-скор, изражен у SD, представља одступање добијене вредности BMD од средње вредности коштане густине младе здраве одрасле особе између 20-30 година, и
- Z-скор, изражен у SD, представља одступање измерене густине кости појединца од густине кости која би се очекивала за ту животну доб.

Дензитометријски критеријуми DXA за степеновање остеопорозе су: нормално - разлика BMD у односу на Т-скор износи до -1 SD; остеопенија - разлика BMD у односу на Т-скор износи од -1 SD до -2,5 SD; остеопороза - разлика BMD у односу на Т-скор износи више од -2,5 SD; тешка остеопороза - разлика BMD у односу на Т-скор износи више од -2,5 SD уз присуство једне или више патолошких фрактура (Jelić и сар., 2008).

Брига о здрављу костију је дуго била потискивана у страну, у поређењу са све значајнијим препознавањем и решавањем метаболичких проблема и проблема са гојазношћу код схизофрених пацијената. У последње време, све је више доказа о постојању повећаног ризика за настанак остеопорозе код оболелих од схизофреније. Први извештаји о високој стопи инциденције остеопорозе и остеопоротских фрактура код SCH пацијената су се појавили пре око 30 година (Higuchi и сар., 1987; Delva и сар., 1989). Недавно су многи радови представили убедљиве доказе да је смањење BMD-а повезано са SCH. Смањена BMD и повећани ризик од настанка фрактура примећени су код SCH пацијената, који су на дугорочној терапији антипсихотицима (Pouwels и сар., 2009). Такође, смањење коштане масе је показано код пацијенткиња са првом епизодом SCH и минималним излагањем антипсихотицима (Magis и сар., 2005), док је у бројним студијама показана повезаност примене антипсихотика и повећаног ризика од прелома код оболелих (Stubbs и сар., 2015). Још увек није разјашњено да ли се сама болест карактерише смањењем коштане масе, или начин живота оболелих (пушење, седентарни начин живота, исхрана, недостатак витамина Д) заједно са третманом антипсихотицима доводе до смањења коштане масе.

Полне разлике у антипсихотичким ефектима на кост (Chen и сар., 2016) често су испитиване код SCH пацијената. Значајна корелација је примећена код старијих особа и у већем проценту код мушкараца, што указују на то да су мушкарци оболели од SCH подложнији остеопорози и остеопенији него жене. Недавно прегледно истраживање постојеће литературе од стране Chen и сарадника (2016), је такође указало на полне разлике у ефектима антипсихотика на BMD код пацијената оболелих од шизофреније.

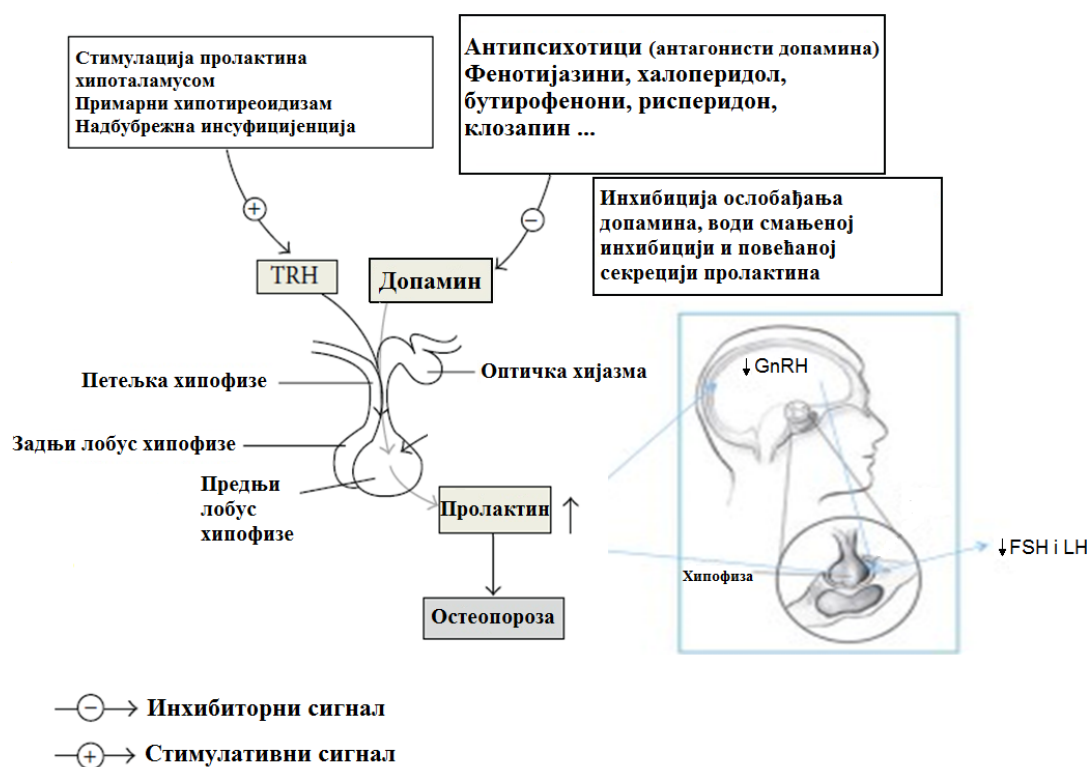
### **1.2.1. Механизми настанка остеопорозе у шизофренији**

Механизми којима антипсихотици узрокују остеопорозу су изузетно комплексни, али се претпоставља да је настанак хиперпролактинемије најзначајнији. Пролактин је хормон који се излучује од стране лактотрофних ћелија предњег режња хипофизе. Антипсихотици блокирају допаминске D2 рецепторе у лактотрофима и узрокују хиперпролактинемију (Falconer и сар., 1983). Допамин, излучен у перивентрикуларној зони хипоталамуса, стиже до предњег режња хипофизе кроз портни систем. Допамином посредована инхибиција секреције пролактина настаје везивањем антипсихотика за D2 рецепторе на мембрани лактотрофних ћелија и укључује неколико система преноса сигнала, што резултира инхибицијом транскрипције пролактин гена и смањењем синтезе и секреције пролактина (Wu и сар., 2013). У клиничкој пракси, хиперпролактинемија се дефинише као ниво пролактина у плазми  $> 20$  ng/mL за мушкарце, и  $> 25$  ng/mL за жене (Freeman и сар., 2000).

Антипсихотици су најчешћи узрок фармаколошки узроковане хиперпролактинемије, а већина антипсихотичних агенаса изазива хиперпролактинемију (Molitch, 2005). Према ефекту који имају на пролактин, антипсихотици се могу класификовати у две групе: антипсихотици који „штеде“ пролактин (*prolactin-sparing*, PS) и они који подижу ниво пролактина у крви (*prolactin-raising*, PR) (Bulut и сар., 2014). D2 антагонистички ефекти неких атипичних антипсихотика као што су оланзапин, клозапин и кветиапин нису дуготрајни и не изазивају дуготрајну хиперпролактинемију. Ови антипсихотици са ограниченим дејством на пролактин се називају PS антипсихотици. Антипсихотици са дуготрајним отпуштањем пролактина и са снажним D2

антагонистичним ефектом називају се PR антипсихотици (O'Keane и Meaney, 2005).

Хиперпролактинемија, узрокована антипсихотикама, може утицати на метаболизам костију на два начина. Са једне стране, хиперпролактинемија утиче директно стимулацијом ресорпције коштаног ткива и ремећењем формирања костију (Seriwatanachai и сар., 2008; Motyl и сар., 2012). Постоји све већи број доказа на молекуларном нивоу да пролактински рецептори постоје на људским остеобластима и показано је да пролактин смањује број ћелија остеобласта услед смањене пролиферације (Seriwatanachai и сар., 2008; Seriwatanachai и сар., 2009), чиме се постиже механизам директног ефекта који објашњава редукцију ВМД. С друге стране, дуготрајна хиперпролактинемија може узроковати хипогонадотропни хипогонадизам (Graham и сар., 2011) преко инхибиције секреције гонадотропин–ослобађајућег хормона (енгл. *gonadotropin-releasing hormone*, GnRH) у хипоталамусу, смањене секреције лутеинизирајућег хормона (енгл. *luteinizing hormone*, LH) и фоликуло стимулирајућег хормона (енгл. *follicle-stimulating hormone*, FSH) из хипофизе, са последичним смањењем секреције полних хормона који значајно утичу на метаболизам костију (Graham и сар., 2011; Meaney и O'Keane, 2002). Смањена синтеза полних хормона или хипогонадизам у оба пола доприноси абнормалном метаболизму костију и остеопорози сличној постменопаузалној остеопорози, обзиром да смањење естрогена и тестостерона доводи до повећане активности остеокласта које није компензовано истовременим порастом активности остеобласта (Kishimoto и сар., 2012; Okita и сар., 2014). Иако дуготрајна хиперпролактинемија може утицати на брзину метаболизма костију, релативан допринос хиперпролактинемије изазване антипсихотикама у губитку коштане чврстине код пацијената са схизофренијом остаје нејасан, те су неопходна даља истраживања у циљу расветљавања ове контроверзе.



**Слика 3.** Остеопороза узрокована антипсихотицима. Преузето и модификовано из: Wu, H., Deng, L., Zhao, L., Zhao, J., Li, L., Chen, J., 2013. Osteoporosis associated with antipsychotic treatment in schizophrenia. *Int J Endocrinol.* 2013, 167138.

С друге стране, остеопороза која се запажа у оболелих од схизофреније може бити и последица поремећаја хипоталамо-хипофизно-адrenalне (енгл. *hypothalamic-pituitary-adrenal*, HPA) осовине који се често описују у оболелих. Активација HPA осовине резултира секрецијом глукокортикоида. Глукокортикоиди остварују своје дејство преко глукокортикоидног рецептора (Oakley и Cidlowski, 2013). Глукокортикоиди делују директно на остеокласте како би смањили апоптозу остеокласта. Такође је познато да глукокортикоиди инхибирају диференцијацију и функцију остеобласта, и промовишу апоптозу остеобласта и остеоцита, чиме се супримира формирања кости (Seibel и сар., 2013). Хронични стрес активира HPA осу и симпатички нервни систем, потискује секрецију гонадалних хормона и хормона раста и повећава ниво инфламаторних цитокина, што на крају доводи до губитка костију инхибирањем стварања костију и стимулацијом ресорпције костију (Azuma и сар., 2015). Остеопороза индукована

глукокортикоидима је други најчешћи облик остеопорозе, и најчешћи је облик остеопорозе која настаје као последица лечења.

### 1.3. Хипоталамо-хипофизно-адrenalна (HPA) осовина

Хипоталамо-хипофизно-адrenalна осовина игра значајну улогу у регулацији метаболизма, крвног притиска, имуног система и других кључних хомеостатских функција и представља један од најважнијих неуроендокриних регулаторних система укључених у адаптивне реакције организма сисара на спољашње и унутрашње претеће стимулусе (Selye, 1975).

Као одговор на стрес, било физички или психички, паравентрикуларно једро хипоталамуса производи кортикотропин ослобађајући хормон (енгл. *corticotrophin releasing hormone*, CRH) и аргинин вазопресин. CRH путује преко портног циркулаторног система до предњег режња хипофизе и везује се за рецепторе CRH тип 1, што заузврат стимулише ослобађање адrenокортикотропног хормона (енгл. *adrenocorticotrophic hormone*, АСТН). АСТН се ослобађа у системску циркулацију и делује на кору надбубрежних жлезда. Ово узрокује лучење три главна типа стероидних хормона: глукокортикоида (кортизол код људи, кортикостерон код пацова), минералокортикоида (алдостерон) и полних хормона (Year и Thakore, 2005).

Глукокортикоиди прелазе крвно мождану баријеру и делују углавном у хипоталамусу, хипофизи и другим регионима мозга, укључујући хипокампус, амигдалу и септум. Системом негативне повратне спреге глукокортикоиди супримирају продукцију CRH и АСТН делујући на хипоталамус и хипофизу. Глукокортикоиди своје регулаторне ефекте на HPA осу испољавају преко два типа рецептора. Тип I - минералокортикоидни рецептор (енгл. *Mineralocorticoid Receptor*, MR) и Тип II - глукокортикоидни рецептор (енгл. *Glucocorticoid Receptor*, GR). Иако преодминантно везује минералокортикоиде, MR има 10 пута већи афинитет за кортикостерон него GR. MR је експримиран у многим ткивима, као што су бубрези, дебело црево, срце, мрко масно ткиво и знојне жлезде, док је у мозгу присутан углавном у хипокампусу. GR преодминантно везују глукокортикоиде и широко су распрострањени у читавом мозгу (Reul и De Kloet,



1985). Рецептори MR су засићени при ниским нивоима глукокортикоида и изгледа да на тај начин детерминишу базалну активност HPA осовине, док GR рецептори достижу засићење током пик фаза циркадијалног ритма и током стреса и стога су првенствено одговорни за "искључивање" HPA осе (De Kloet и сар., 1998). Овај контролисани ниво излагања ткива глукокортикоидима ограничава катаболичке, имуносупресивне и антирепродуктивне ефекте ових хормона (McEwen и Stellar, 1993). На основу различитих профила везивања ендогених глукокортикоида, сматра се да GR посредује у преносу негативних повратних сигнала при повишеном нивоу глукокортикоида, док MR контролише инхибиторне особине хипокампуса на активност HPA осе (Reul и сар., 2000).

Излагање хипокампуса превеликим концентрацијама глукокортикоида може довести до неуротоксичности узроковане ослобађањем ексцитотоксичних аминокиселина као што је глутамат, који за узврат изазива ослобађање слободног калцијума у постсинаптичке неуроне преко глутаматергичких рецептора (Armanini и сар., 1990). Још један ефекат глукокортикоида у вишку је инхибиција транспорта глукозе и убрзани губитак енергије. Повишени нивои глукокортикоида такође узрокују нисходну регулацију кортикостероидних рецептора у хипокампусу, што утиче на контролу повратне спреге (Sucheki и сар., 1995).

### **1.3.1. Глукокортикоидни рецептор**

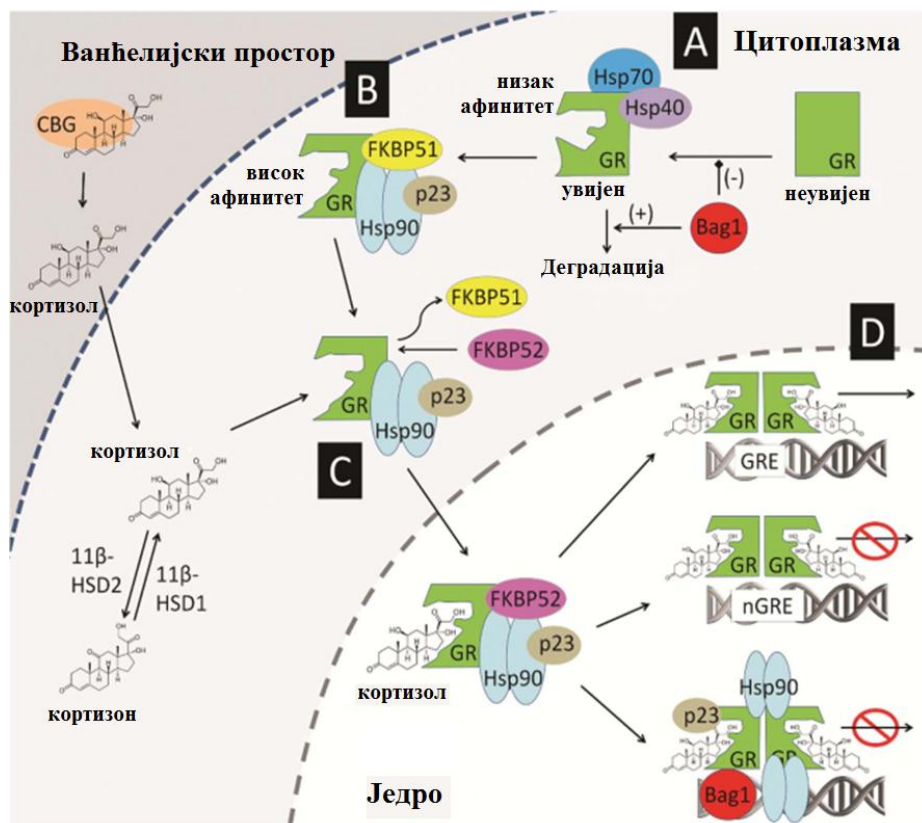
Ефекти глукокортикоида зависе од концентрације глукокортикоидног хормона, броја и фосфорилације глукокортикоидних рецептора, као и нивоа протеина који су повезани са глукокортикоидним рецепторима (Krstic и сар., 1997; Davies и сар., 2002). Глукокортикоидни рецептори припадају нуклеарној рецепторској суперфамилији и представљају лиганд-зависне транскрипционе факторе (Heitzer и сар., 2007). Састављени су од транскрипционо-активишућег N-терминалног регулаторног домена, централног дезоксирибонуклеинске киселине (DNK) везујућег домена и C-терминалног лиганд-везујућег домена. Лиганд-везујући домен, који се састоји од алфа хеликса и бета плоче, формира хидрофобни џеп и додатни, бочни џеп који омогућава селективно везивање глукокортикоида (Luisi и сар., 1991). У одсуству глукокортикоида, GR се налазе у

цитоплазми везани у комплексу шаперона који одржавају рецептор у инактивном стању и адекватној конформацији за везивање лиганда. Комплекс обухвата протеине топлотног шока (енгл. heat-shock proteins, HSP) (HSP40, HSP70, HSP90), као и ко-шаперон везујуће протеине (FKBP51, CyP40, p23, p60 и Hop) (Davies и сар., 2002). Утврђено је да HSP70 иницира отварање хидрофобног стероид-везујућег цепа у АТФ-зависном процесу, како би HSP90 могао да се асоцира са лиганд-везујућим доменом, одржавајући рецептор високо доступним за лиганд (Morishima и сар., 2000). Иницијална интеракција са HSP70 је кључна за стабилност HSP90 хетерокомплекса. Студијама *in vitro* је доказано да GR губе способност везивања за стероид уколико се одвоје од HSP90 и HSP70 комплекса (Molijn и сар., 1995). Одлучујућу улогу у регулацији активности GR има FK506-везујући протеин 51 (енгл. *FK506-binding protein 51*, FKBP51) који модулише осетљивост GR на кортизол (Binder, 2009). Већа експресија FKBP51 доводи до измењене реакције GR на кортизол и на тај начин утиче на регулацију негативне повратне спреге НРА осе (Scammell и сар., 2001). Наиме, FKBP51 везан за глукокортикоидни рецептор одржава рецептор у инактивном стању у цитоплазми и, након везивања хормона, размењује се са другим имунофилином, FKBP52 који се везује за динеин и започиње транслокацију комплекса глукокортикоидни рецептор-HSP90-FKBP52-динеин комплекс из цитоплазме у једру (Davies и сар., 2002).

У невезаном стању, рецептор је фосфорилисан, а након везивања лиганда постаје хиперфосфорилисан. Фосфорилација серина Ser203, Ser211 и Ser226 (Ser224, Ser232 и Ser246 код пацова) и убиквитинација лизина су познате посттранслационе модификације. У одсуству хормона, GR су преобладајуће фосфорилисани на Ser203, док се додавањем хормона фосфорилишу и Ser211 и Ser226. Фосфорилација Ser211 (Ser232 код пацова) повећава транскрипциону способност GR и биомаркер је за активисани GR *in vivo*. Фосфорилациони статус GR је у вези и са његовом локализацијом у ћелији: GR фосфорилисан на Ser203 се преобладајуће налази у цитоплазматском компартману, док фосфорилација Ser211 локализује рецептор како у цитоплазми, тако и у једру (Wang и сар., 2002). Унутар једра GR формирају димере и везују се за специфична места на DNK молекулу – “GC response elements (GREs)”, што доводи до покретања различитих

коактиватора и корепресора који врше позитивну или негативну регулацију транскрипције гена који садрже GRE. GR такође могу вршити индукцију или репресију генске транскрипције посредством протеинско-протеинских интеракција са транскрипционим факторима унутар нуклеуса (Kassel и Herrlich, 2007).

Доказано је присуство GR у мозгу, на неуронима асцедентних допаминергичких путева префронталног кортекса, на неуронима лимбичког система, стријатуму, нуклеус акумбенсу и паравентрикуларном једру хипоталамуса (Mizoguchi и сар., 2004). Многа истраживања указују на поремећај GR код особа са шизофренијом (Webster и сар., 2002).

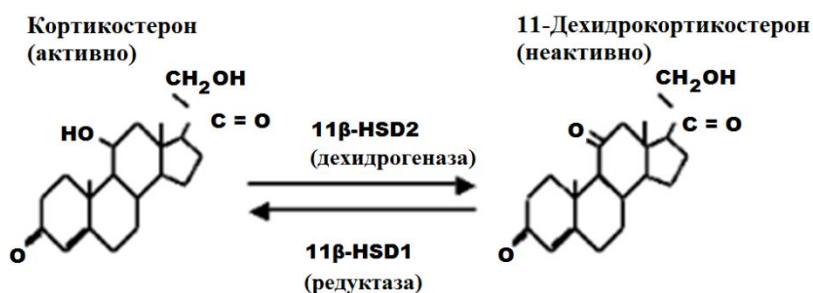


**Слика 4.** GR сигнализација. Укључивање кључних ко-фактора и шаперона у GR-посредовано сигнализирање. (A) Hsp40 и Hsp70 олакшавају, док Bag1 отежава, увијање GR у конформацију са малим афинитетом за стероид. Bag1 такође помаже деградацију нестабилно увијеног GR комплекса, (B) Hsp90, p23 и FKBP51 стабилизују комплекс GR у високом афинитетном стању, (C) Супституција FKBP51 помоћу FKBP52 омогућава транслокацију хетерокомплекса кортизол-рецептор у једро, (D) унутар једра, GR активира или инхибира транскрипцију циљних гена, на GREs или nGREs редом. Прекомерна експресија Bag1, Hsp90 или p23 може потиснути GR-посредовану транскрипцију гена. Доступност слободног кортизола (модулирана помоћу CBG) и интерконверзија кортизола у кортизон помоћу 11β-HSD1/2 такође утиче на GR сигнализацију. Преузето из: Sinclair, D., Fillman, S.G., Webster, M.J., Weickert, C.S., 2013. Dysregulation of glucocorticoid receptor co-factors FKBP5, BAG1 and PTGES3 in prefrontal cortex in psychotic illness. *Sci Rep.* 3, 3539.

### 1.3.2. Метаболизам кортикостерона

Активност глюкокортикоида у циљним ткивима је регулисана помоћу  $11\beta$ -хидроксистероид дехидрогеназе ( $11\beta$ -HSD), која каталише интерконверзију активних кортикостероида и њихових инактивних метаболита (Bradley и Dinan, 2010).

Кортикостерон се метаболише помоћу система  $11\beta$ -HSD који се састоји од два ензима:  $11\beta$ -HSD1 и  $11\beta$ -HSD2 који модификују деловање кортикостерона у ткивно-специфичном маниру. Ензим  $11\beta$ -HSD1 помоћу кофактора NADPH преводи биолошки неактивну форму 11-хидроксистероид у активну форму кортикостерон, док  $11\beta$ -HSD2 делује као дехидрогеназа и користећи кофактор NAD<sup>+</sup> преводи кортикостерон у 11-дехидрокортикостерон.



**Слика 5.** Превођење кортикостерона у 11-дехидрокортикостерон помоћу  $11\beta$ -HSD-а.  $11\beta$ -HSD2 преводи активне глюкокортикоиде (кортикостерон) у њихов инактивни 11-кето дериват (11-дехидрокортикостерон), док се регенерација у активни стероид врши помоћу  $11\beta$ -HSD1 који делује као редуктаза. Преузето из: Holmes, M.C., Seckl, J.R., 2006. The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Mol Cell Endocrinol.* 248(1-2), 9-14.

Општи ефекат је да  $11\beta$ -HSD1 повећава, док  $11\beta$ -HSD2 смањује локалне концентрације биолошки активног кортикостерона у одређеном ткиву. Ензим  $11\beta$ -HSD1 има низак афинитет за супстрат, али истовремено и висок капацитет. Присутан је у метаболички активним ткивима у организму као што су јетра, адипозно ткиво, кости, гонаде (код неких врста) и мозак (Moisan и сар., 1990; Seckl, 2004). Подручја значајне експресије  $11\beta$ -HSD1 у мозгу су уједно и централна места деловања глюкокортикоида путем негативне повратне спреге, укључујући паравентрикуларно једро хипоталамуса, са највишом експресијом у

кори великог мозга и хипокампус (Holmes и Seckl, 2006; Pelletier и сар., 2007). Експериментално је показано да је 11 $\beta$ -HSD1 веома снажан регулатор интрацелуларне концентрације кортикостерона и одлучујући фактор његовог дејства (Seckl и Walker, 2004).

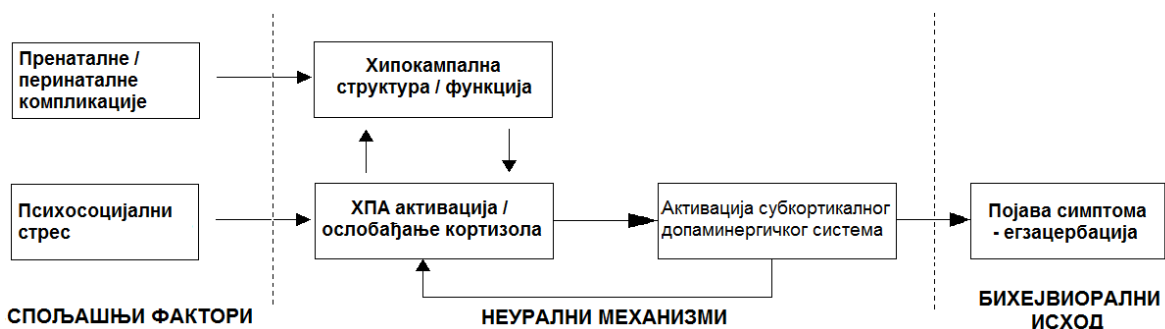
Најважнија улога 11 $\beta$ -HSD2 у периферним ткивима је заштита унутрашњих неселективних MR рецептора у бубрегу од активације кортикостероном, уместо њиховим примарним *in vivo* лигандом – алдостероном (Edwards и сар., 1988). У мозгу одраслих пацова 11 $\beta$ -HSD2 је експримиран у пар изолованих једара, углавном укључених у одржавање централне контроле равнотежног односа соли и воде, као и крвног притиска (Roland и сар., 1995; Robson и сар., 1998). Због тога се сматра да 11 $\beta$ -HSD2 у адултном мозгу штити MR од активације кортикостероном (Gomez-Sanchez 1986; Gomez-Sanchez и Gomez-Sanchez, 1992), што је дејство аналогно оном у дисталним нефронима бубрега.

### **1.3.3. Поремећај НРА осовине у шизофренији**

Поремећај НРА осовине, повећање секреције глукокортикоида, као и смањена експресија глукокортикоидног рецептора у кортексу и хипокампусу су показани код оболелих од шизофреније (Bradley и Dinan, 2010). Уочено је да пацијенти оболели од шизофреније а који су клинички стабилни и примају терапију, имају нормалну НРА осу (Tandon и сар., 1991; Ismail и сар., 1998), али да пацијенти који нису добијали лекове или су у акутној фази болести, имају активирану НРА осу (Holsboer-Trachsler и сар., 1987; Tandon и сар., 1991). Такође, смањена експресија гена глукокортикоидног рецептора описана је у фронталном кортексу оболелих од шизофреније (Webster и сар., 2000). У складу са овим подацима је и *post mortem* студија, где је показан смањен ниво информационе рибонуклеинске киселине (iRNK) глукокортикоидног рецептора у фронталном и темпоралном кортексу и у хипокампуса оболелих од шизофреније (Webster и сар., 2002). Узрочна улога глукокортикоида у патогенези шизофреније огледа се и у погоршању неуропатолошких промена и когнитивне дисфункције карактеристичне за шизофренију услед повећане концентрације глукокортикоида (Newcomer и сар., 1998; Cotter и Pariante, 2002; Kapoor и сар., 2009). Студије су

такође показале да психотропни лекови могу утицати на глукокортикоидни рецептор и на секрецију кортизола (Pariante и Miller, 2001).

Велики број доказа указује на то да активација имунског система може бити одговорна за хиперактивност НРА осе. Повећана производња проинфламаторних цитокина стимулише активност НРА осе (Tilders и сар., 1994; Turnbull и Rivier, 1999), што је довело до развоја неколико неуроразвојних анималних модела схизофреније, нпр. ињекције бактеријског ендотоксина, глукокортикоида и изложености хроничном стресу током критичних периода трудноће (Hauser и сар., 2006; Romero и сар., 2008). Неурални дијатеза-стрес модел претпоставља да НРА осовина може да покрене каскаду догађаја који кулминирају дисфункционалним неуронским круговима који се налазе у основи психотичних симптома (Walker и Diforio, 1997).



Слика 6. Неурални дијатеза-стрес модел. Преузето и модификовано из: Walker, E. F., Diforio, D., 1997. Schizophrenia: A neural diathesis-stress model. *Psychological Review*, 104(4), 667-685.

## 2. ЦИЉЕВИ

С обзиром на претходно изнете чињенице постављени су следећи циљеви ове докторске тезе:

- 1) Испитати динамику утицаја примене халоперидола и клозапина на коштану масу и структуру кости, телесни састав и дистрибуцију масног ткива код мужјака пацова у фенциклидинском анималном моделу схизофреније.
- 2) Испитати дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на НРА осовину одређивањем експресије GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 и 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу, хипокампусу, таламусу и нуклеус каудатусу мозга пацова као и одређивањем нивоа кортикостерона у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином.
- 3) Испитати дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију пролактина, глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином.
- 4) Испитати дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију IL-6 и TNF- $\alpha$  у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином.



## 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

### 3.1. Експерименталне животиње

У експериментима су коришћени пацови мушког пола, соја *Wistar*, који су узети из узгајалишта Института за биомедицинска истраживања Галеника у Београду.

### 3.2. Третирање животиња

Трудне женке *Wistar* пацова су узете у исто време, у 14-ом дану трудноће. Животиње су биле појединачно чуване у кавезима смештеним у животињском виваријуму са контролисаном температуром и са дванаесточасовним циклусом светло-мрак. Храна и вода су били доступни *ad libitum*. Након 24 часа од порођаја, новорођени пацови из више легла су били измешани а онда насумично распоређени женкама на дојење. Дан рођења је био означен као постнатални (PN) дан 0. Шест група експерименталних животиња је било субкутано (s.c.) третирано 2, 6, 9, и 12-ог PN дана фенциклидином (PCP, три групе) или физиолошким раствором (0,9% NaCl, три групе). PCP (*Sigma*) је био растворен у 0,9% физиолошком раствору (0,001 g/ml) и убризгаван у интерскапуларни регион (10 mg/kg телесне тежине). Доза и време примене третмана су усвојени из објављених студија (Wang и сар., 2001; Radonjić и сар., 2008). Код контролних група физиолошки раствор је био убризган s.c. у истој запремини као и PCP. Младунци су били задржани у истим леглима до 30-ог PN дана, када смо их одвојили од мајки и раздвојили према полу.

### 3.3. Експерименталне групе

Формирано је шест група мужјака пацова:

- 1) NaCl група (n=8) – контрола – перинатална NaCl примена; од PN35 до PN100 пацови су добијали пијаћу воду у коју смо додали сирћетну киселину (финална концентрација 1mM) у истоветној концентрацији која се користи за растварање антипсихотика (халоперидола и клозапина).
- 2) РСР група (n=8) – перинатално третирани РСР-ом; од PN35 до PN100 сирћетну киселину смо додавали у пијаћу воду као у групи 1.
- 3) NaCl-H група (n=7) – перинатална NaCl примена; 35-ог PN дана је започета терапија халоперидолом (H) (*Krka*, Словенија) који смо растварали у води за пиће у дози од 1 mg/kg ТТ/дан (Steward, 2012). Лек је орално администриран у води за пиће у периоду од девет недеља (до PN100). Антипсихотик смо растварали у 0,1М сирћетној киселини а затим смо разблаживали (1:100) за дневну администрацију лека у води за пиће (Terry, 2007). Дозирање лекова је било у складу са просечном дневном потрошњом воде у односу на телесну тежину животиња.
- 4) РСР-H група (n=8) – пренатална примена РСР-а; након које је следила терапија халоперидолом описана у претходном пасусу.
- 5) NaCl-C група (n=7) – перинатална NaCl примена; 35-ог PN дана је започета терапија клозапином (C) (*Sandoz*, Немачка) који је растворен у води за пиће у дози од 20 mg/kg ТТ/дан (Steward, 2012). Лек је орално администриран у води за пиће у периоду од девет недеља (до PN100). Антипсихотик смо растварали у 0,1М сирћетној киселини а затим смо разблаживали (1:100) за дневну администрацију лека у води за пиће (Terry, 2007). Дозирање лекова је било у складу са просечном дневном потрошњом воде у односу на телесну тежину животиња.
- 6) РСР-C група (n=7) – перинатална примена РСР-а; након које је следила терапија клозапином описана у претходном пасусу.

Телесна тежина животиња је мерена 60. и 98. PN дана.

Све експерименталне процедуре су биле одобрене од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Медицинског факултета

Универзитета у Београду и Министарства пољопривреде и заштите животне средине – Управа за ветерину (дозвола број 323-07-09403/2015-05/2).

### **3.4. Одређивање параметара коштане масе и телесног састава *in vivo* методом DXA**

Минерална коштана густина (енгл. *Bone mineral density* - BMD), минерални садржај костију (енгл. *Bone mineral content* – BMC), количина масног ткива и удео мишићне масе су мерени PN60 и PN98 *in vivo* методом двоструке апсорпциометрије X-зрака (DXA), коришћењем Lunar Prodigy Advance DXA (*GE Healthcare Lunar Corp.*, Madison, USA) са софтвером EnCore2007 под опцијом *Small animal body analysis*. Животиње су биле анестезиране и.р. ињекцијом раствора тиопентал натријума (40 mg/kg телесне тежине, Sigma, St. Louis). Мерења су спроведена у стандардном режиму, површина 20×30 cm, напон 76.0 kV, доза 1.9  $\mu$ Gy. BMD (mg/cm<sup>2</sup>) и BMC (mg/cm) измерени су у регионима од интереса (фемур, кичма и тело које поред кичме и фемура укључују главу, труп и ребра). Количине масног и мишићног ткива (g) су представљене као ноге, труп и укупни садржај.

### **3.5. Жртвовање животиња и издвајање ткива**

Животиње су жртвоване цервикалном дислокацијом и декапитацијом 100. PN дана. Након декапитације, главе су тренутно замрзаване у течном азоту, а затим чуване на -85°C. За биохемијска испитивања су по жртвовању животиња из свих експерименталних група из пуне крви били припремљени узорци серума на следећи начин: Након спонтане коагулације крв је била центрифугирана на 3000 обртаја/мин током 15 минута. Серуми су били издвојени и чувани до анализе на -80°C степени. Ретроперитонеално и периепидидимално масно ткиво је измерено након жртвовања животиња. Фемури су издвајани методом дезартикулације у зглобу кука.

### **3.6. Патохистолошка анализа фемура помоћу светлосне микроскопије**

Након макроскопске обраде издвојених фемура у смислу одстрањивања мекоткивних елемената препарата (демускуларизација и депериостирање) коштано ткиво је било фиксирано у 10% неутралном пуферисаном формалину. Након обраде у раствору за декалцификацију (8% HCl од 37% (v/v) концентрата и 10% мравље киселине од 89% (v/v) концентрата у PBS-у) током 24 сата на 37°C, кост је била сагитално пресечена једним резом кроз главу фемура, велики и мали трохантер и дијафизу. За патохистолошку анализу је био издвојен проксимални фемур са наведеним структурама. Даља обрада издвојених ткивних коштаных узорака подразумевала је стандардизовану лабораторијску технику фиксације, де и рехидратације у апарату за аутоматску фиксацију ткива. Тако припремљено ткиво је калупљено у парафинске блокове, а потом серијски секли микротомом на пресеке дебљине 5µм. Од сваког узорка су била исечена 3 пресека. Добијени пресеци су бојени хистохемијски следећим лабораторијским техникама хематоксилин-еозином фон Коса (*von Kossa*) и трихромним бојењем по Масону (*Masson's trichrome stains*) и анализирали светлосним микроскопом *Nikon*, модел *Eclipse Ci*, са контролном јединицом DS-L3 и фабрички инсталираним софтвером.

### **3.7. Одређивање експресије протеина техником Western blot-a**

Експресије GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 и 11β-HSD1 су биле одређиване техником Western blot-a. По пет животиња из сваке групе је жрвовано цервикалном дислокацијом и декапитацијом 100 ПН дана. Након декапитације, главе су тренутно замрзаване у течном азоту, а затим чуване на -85°C. Мождане структуре (кортекс, хипокампус, таламус и нуклеус каудатус) су посебно изоловане из сваке животиње и препарисане на хладно, а потом су били изоловани укупни протеини у RIPA пуферу (300 mM NaCl, 20 mM HEPES pH=7.5, 0.2% SDS, 2% Na-deoksiholat, 2% Triton X-100) који садржи протеазне инхибиторе (протеаза инхибитор коктел, 100 mM PMSF, 200 mM Na-ortovanadat и 1M NaF). Концентрација протеина је одређивана методом по *Bradford*-у. Затим је извршена

електрофореза протеина у денатуришућем SDS полиакриламидном гелу, након чега је био извршен трансфер протеина са гела на нитроцелулозну мембрану. Мембране су потом инкубиране у 5% немасном млеку у праху раствореном у TBST-у (50 mM Tris-HCl, pH=7.4, 150 mM NaCl, 0.05% Tween 20) ради блокирања неспецифичних места везивања. Након блокирања, мембране су инкубиране са следећим примарним антителима: GR (1:500, зечје поликлонско, *Santa Cruz*, USA), pGR (Ser 211) (1:1000, зечје поликлонско, *Abcam*, UK), HSP70 (1:500, козје поликлонско, *Santa Cruz*, USA), HSP90 (1:5000, мишје моноклонско, *Santa Cruz*, USA), FKBP51 (1:1000, зечје поликлонско, *Abcam*, UK) и 11 $\beta$ -HSD1 (1:400, зечје поликлонско, *Abcam*, UK). Потом су мембране инкубиране са одговарајућим HRP-обележеним секундарним антителима (1:2000, анти-мишје, анти-зечје или анти-козје) током 60 минута. Мембране су затим изложене активираним луминол радном раствору (активира га 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), током 2 минута на собној температури и визуелизација специфичних протеинских трака је извршена употребом ChemiDoc MP система (*Bio-Rad*, SAD). Са свих мембрана су уклоњена претходно везана антитела ради инкубирања са мишјим моноклонским  $\beta$ -актин антителом (1:10000; *Sigma-Aldrich*, Немачка), како би се проверило да су сви бунарићи били подједнако напуњени приликом наливања узорака на гел. Блотови су денситометријски анализирани коришћењем софтвера ImageQuant5.2.

### **3.8. Одређивање концентрације кортикостерона и пролактина**

За одређивање концентрације појединих параметара из серума пацова коришћени су комерцијални ELISA китови и то: за кортикостерон *Corticosterone* EIA Kit, IDS, и за пролактин *Prolactin* ELISA Kit, Novus Biologicals, Ltd.

### **3.9. Спектрофотометријско одређивање концентрације глукозе, холестерола и триацилглицерола**

За одређивање концентрације глукозе коришћен је комерцијални сет за глукозу (*GL 364, Randox, Crumlin, UK*), у коме је обезбеђен пуфер, GOD-PAР реагенс и стандард за глукозу. Принцип методе се заснива на оксидацији глукозе у глуконску киселину и водоник пероксид под утицајем ензима глукозо оксидазе. Тако настали водоник пероксид у присуству пероксидазе са 4-аминофеназон и фенолом гради иминохинон. Стварање иминохинона доводи до промене боје реакционе смеше чији је интезитет директно пропорционалан концентрацији глукозе и мери се спектрофотометријски на 500nm.

За одређивање концентрације холестерола коришћен је комерцијални сет за холестерол (*CH 200, Randox, Crumlin, UK*), у коме је обезбеђен стандард за холестерол и реагенс. Принцип одређивања холестерола заснива се на ензимској хидролизи и оксидацији холестерола у холестенон и водоник пероксид. Даље, водоник пероксид у присуству пероксидазе са 4-аминоптирином и фенолом гради обојено једињење хиноним чији је интезитет директно пропорционалан концентрацији холестерола и мери се спектрофотометријски на 500nm.

За одређивање концентрације триацилглицерола коришћен је комерцијални сет за триацилглицероле (*TR 1697, Randox, Crumlin, UK*), у коме је обезбеђен пуфер, GPO-PAР реагенс и стандард за триацилглицероле. Триацилглицероли се одређују након ензимске катализе под дејством липазе. Даље, водоник пероксид са 4-аминофеназоном и 4-хлорфенолом под дејством пероксидазе гради обојено једињење хинонеимин, чији је интезитет директно пропорционалан концентрацији триацилглицерола и мери се спектрофотометријски на 505nm.

### **3.10. Одређивање концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$**

За одређивање концентрације појединих параметара из серума пацова коришћени су комерцијални ELISA китови и то: за IL-6 *Rat IL-6 ELISA Kit*, Novex, Life technologies и за TNF- $\alpha$  *Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kit*, Invitrogen.

### **3.11. Статистичка анализа**

Добијене вредности су статистички анализирани ANOVA тестом уз коришћење *Fisherovog* LSD теста за *post hoc* анализу. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка (S.E.M.) у програму *OriginPro 8.1*. Експресија сваког од протеина у контроли је изражена као 100% док је експресија у осталим групама изражена у односу на контролу. Вредност  $p < 0,05$  сматрана је статистички значајном, док су вредности  $p < 0,01$  и  $p < 0,001$  сматране високо статистички значајним.

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на коштану масу и структуру кости, телесни састав и дистрибуцију масног ткива код мужјака пацова

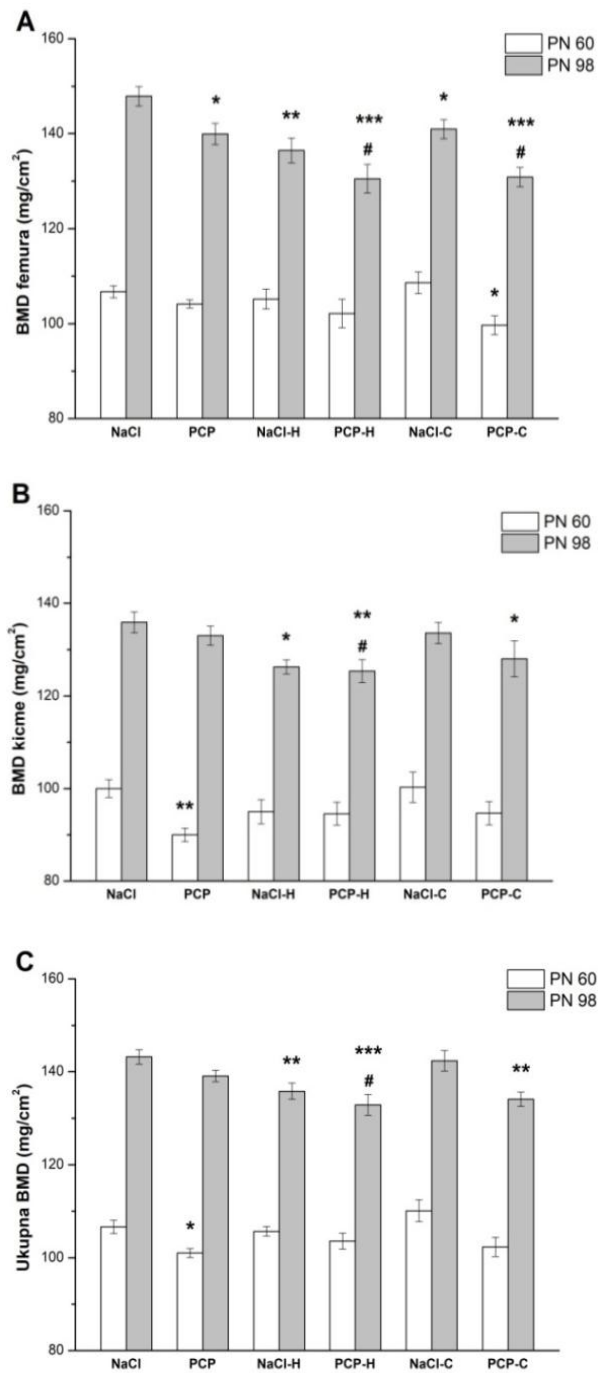
#### 4.1.1. Утицај примене халоперидола и клозапина на BMD мужјака пацова

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, као и третмана халоперидолом и клозапином на BMD мужјака пацова су приказани на графику 1 (А-С). Уочено је да су промене BMD биле израженије 98. PN дана.

ANOVA тестом су 60. PN дана уочене значајне промене BMD фемура [F(5,39)=2,69; p<0,05], BMD кичме [F(5,39)=2,43; p<0,05] као и укупне BMD [F(5,39)=4,97; p<0,001] између испитиваних група. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно смањење BMD фемура у РСР-С групи (p<0,05) у односу на контролу. Такође, *post hoc* анализом је показано смањење BMD кичме (p<0,01) и укупне BMD у РСР групи (p<0,05) у поређењу са контролном групом.

Анализа резултата добијених 98. PN дана указује на статистички значајне промене BMD фемура [F(5,39)=7,46; p<0,001], BMD кичме [F(5,39)=3,73; p<0,01] као и укупну BMD [F(5,39)=2,68; p<0,05] између испитиваних група. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно смањење BMD фемура у РСР (p<0,05), NaCl-Н (p<0,01), NaCl-С групи (p<0,05) као и РСР-Н и РСР-С групи (p<0,001) у поређењу са контролном групом, док је у РСР-Н и РСР-С групи уочено смањење и у односу на РСР групу (p<0,05). BMD кичме је значајно смањен у NaCl-Н и РСР-С групи (p<0,05) у поређењу са контролном групом. Такође, уочено је смањење у РСР-Н групи у односу на контролу (p<0,01) као и у односу на РСР групу (p<0,05). Промене у укупној BMD су сличне, значајна редукција у NaCl-Н и РСР-С групи (p<0,01) у односу на контролу, као и у РСР-Н групи у поређењу са контролном групом (p<0,001) и групом перинатално третираном фенциклидином (p<0,05).





**График 1.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на коштану минералну густину фемура (А), кичме (В) и укупну коштану минералну густину (С) уочени 60. и 98. ПН дана код мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  у поређењу са контролном групом

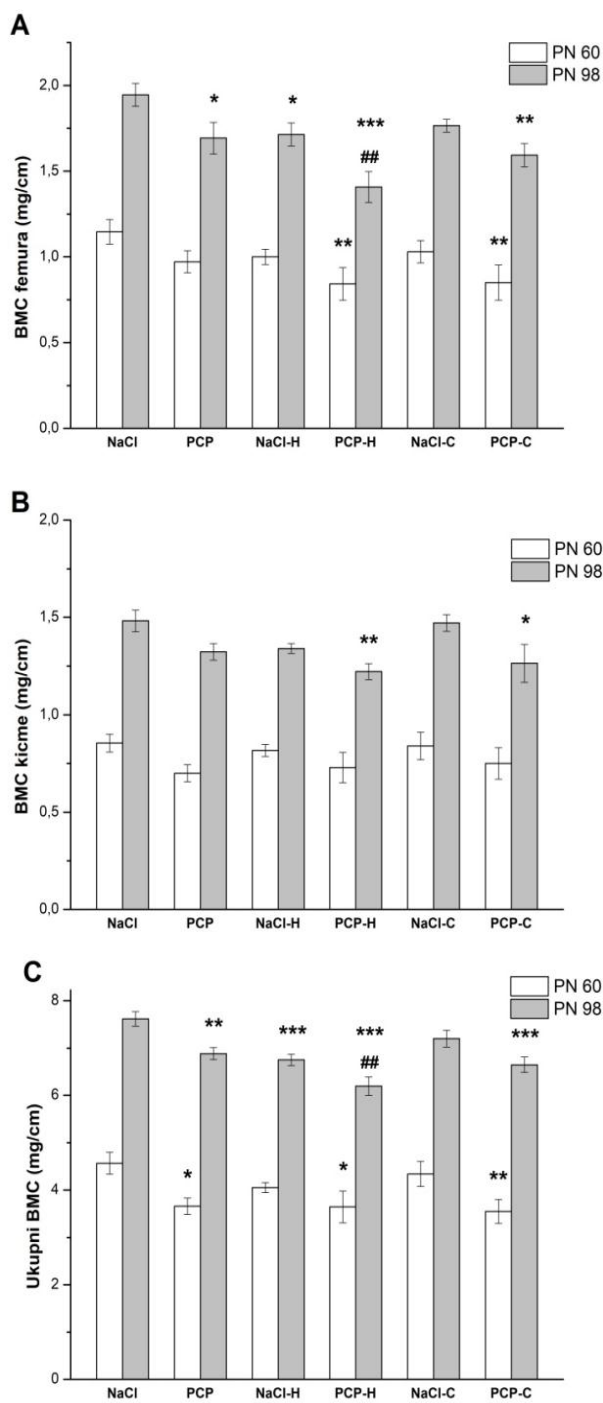
#  $p < 0,05$  у поређењу са PCP групом

#### 4.1.2. Утицај примене халоперидола и клозапина на ВМС мужјака пацова

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, као и третмана халоперидолом и клозапином на ВМС мужјака пацова су приказани на графику 2 (А-С).

Статистички значајне разлике ВМС фемура [ $F(5,39)=3,01$ ;  $p<0,05$ ] и укупног ВМС [ $F(5,39)=3,32$ ;  $p<0,05$ ] уочене су 60. ПН дана, док није било разлика у ВМС кичме [ $F(5,39)=1,2$ ;  $p>0,05$ ] између испитиваних група. *Post hoc* анализом је показано смањење ВМС фемура у РСР-Н и РСР-С групи у односу на контролу ( $p<0,01$ ). Укупан ВМС је значајно смањен у РСР ( $p<0,05$ ), РСР-Н ( $p<0,05$ ) и РСР-С групи ( $p<0,01$ ) у односу на контролну групу животиња.

Анализа добијених резултата показује да су промене ВМС биле израженије 98. ПН дана. ANOVA тестом уочене су статистички значајне промене ВМС фемура [ $F(5,39)=3,38$ ;  $p<0,01$ ], ВМС кичме [ $F(5,39)=2,87$ ;  $p<0,05$ ] као и укупног ВМС [ $F(5,39)=8,84$ ;  $p<0,001$ ] између испитиваних група. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно смањење ВМС фемура у РСР и NaCl-Н групи ( $p<0,05$ ), РСР-Н ( $p<0,001$ ) и РСР-С ( $p<0,01$ ) групи у односу на контролу. Такође, уочено је смањење у РСР-Н групи у односу на групу животиња перинатално третираних фенциклидином ( $p<0,01$ ). ВМС кичме је значајно смањен у РСР-Н ( $p<0,01$ ) и РСР-С групи ( $p<0,05$ ) у поређењу са контролном групом, док је укупан ВМС статистички значајно смањен у РСР ( $p<0,01$ ), NaCl-Н ( $p<0,001$ ), РСР-Н ( $p<0,001$ ) и РСР-С групи ( $p<0,001$ ) у односу на контролу. Такође, укупни ВМС је значајно смањен у РСР-Н групи у односу на групу животиња перинатално третираних фенциклидином ( $p<0,01$ ).



**График 2.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на коштани минерални садржај фемура (А), кичме (В) и укупан коштани минерални садржај (С) учени 60. и 98. ПН дана код мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  у поређењу са контролном групом

## $p < 0,01$  у поређењу са РСР групом

#### 4.1.3. Утицај примене халоперидола и клозапина на количину масног ткива мужјака пацова одређивану ДХА-ом

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, као и третмана халоперидолом и клозапином на количину масног ткива мужјака пацова су приказани у Табели 2. ANOVA тестом показане су статистички значајне промене 60. ПН дана у количини масног ткива ногу [F(5,39)=3,72; p<0,01], трупа [F(5,39)=2,42; p<0,05] и укупној количини масног ткива [F(5,39)=3; p<0,05]. *Post hoc* анализом је показано статистички значајно смањење у количини масног ткива ногу у РСР (p<0,01), РСР-Н (p<0,001) и РСР-С (p<0,01) групи у односу на контролу. Такође, количина масног ткива трупа била је значајно смањена у РСР и РСР-Н групи (p<0,05), као и укупна количина масног ткива у РСР, РСР-Н и РСР-С групи (p<0,05) у односу на контролу.

Анализа резултата добијених 98. ПН дана указује на статистички значајне промене у количини масног ткива ногу [F(5,39)=5,79; p<0,001] и укупној количини масног ткива [F(5,39)=4,64; p<0,01] између испитиваних група животиња. Нису уочене значајне промене у количини масног ткива трупа [F(5,39)=2,86; p>0,05]. *Post hoc* анализом је показано статистички значајно повећање у количини масног ткива ногу у РСР (p<0,01) и NaCl-С групи (p<0,05) у односу на контролу. Такође, уочено је значајно смањење у РСР-Н (p<0,001) и РСР-С (p<0,05) групи у односу на РСР групу. Укупна количина масног ткива била је значајно повећана у NaCl-С групи (p<0,05) у односу на контролу и значајно смањена у РСР-Н групи (p<0,01) у односу на РСР групу.

**Табела 2.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на садржај масти уочени 60. и 98. PN дана код мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

МАСНО ТКИВО (g)							
		NaCl	PCP	NaCl-H	PCP-H	NaCl-C	PCP-C
Ноге	PN 60	18,3 $\pm$ 0,9	14,6 $\pm$ 0,7**	15,5 $\pm$ 0,2	13,6 $\pm$ 1,3***	16,1 $\pm$ 1	14,3 $\pm$ 1,2**
	PN 98	18,5 $\pm$ 1,23	23,3 $\pm$ 2,2**	20,1 $\pm$ 0,3	16,7 $\pm$ 1,4###	22,4 $\pm$ 0,9*	19,5 $\pm$ 0,6#
Труп	PN 60	45,9 $\pm$ 3,8	35 $\pm$ 1,6*	38,8 $\pm$ 1,8	34,6 $\pm$ 3,6*	42,4 $\pm$ 3,9	36,5 $\pm$ 2,9
	PN 98	62 $\pm$ 4,7	64,8 $\pm$ 3,6	58,1 $\pm$ 2,6	56 $\pm$ 2,8	68,7 $\pm$ 2,1	67,1 $\pm$ 3
Укупно	PN 60	69,6 $\pm$ 4,8	53,9 $\pm$ 2,2*	58,7 $\pm$ 2,1	53,1 $\pm$ 5,4*	63,2 $\pm$ 4,9	55,3 $\pm$ 4,4*
	PN 98	86,5 $\pm$ 5,5	95,5 $\pm$ 4,1	84,4 $\pm$ 2,9	78,6 $\pm$ 4###	99,1 $\pm$ 2,5*	93,2 $\pm$ 3,5

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 у поређењу са контролном групом

# p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001 у поређењу са PCP групом

#### 4.1.4. Утицај примене халоперидола и клозапина на удео мишићне масе мужјака пацова одређиван ДХА-ом

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, као и третмана халоперидолом и клозапином на садржај мишићног ткива мужјака пацова су приказани у Табели 3. Анализа резултата добијених 60. ПН дана указује на статистички значајне промене у садржају мишићног ткива ногу [ $F(5,39)=4,98$ ;  $p<0,01$ ], трупа [ $F(5,39)=4,63$ ;  $p<0,01$ ] и укупном садржају мишићног ткива [ $F(5,39)=5,41$ ;  $p<0,001$ ] између испитиваних група животиња. *Post hoc* анализом је показано статистички значајно смањење садржаја мишићног ткива ногу, трупа и укупног садржаја у свим групама перинатално третираним фенциклидином (РСР, РСР-Н и РСР-С група) у односу на контролну групу животиња.

ANOVA тестом показане су статистички значајне промене 98. ПН дана у садржају мишићног ткива ногу [ $F(5,39)=9,93$ ;  $p<0,001$ ], трупа [ $F(5,39)=9,87$ ;  $p<0,001$ ] и укупном садржају мишићног ткива [ $F(5,39)=13,17$ ;  $p<0,001$ ] између испитиваних група животиња. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно повећање садржаја мишићног ткива ногу у РСР групи ( $p<0,05$ ) као и значајно смањење у РСР-Н групи ( $p<0,01$ ) у односу на контролу. Такође, садржај мишићног ткива је смањен у РСР-Н ( $p<0,001$ ) и РСР-С групи ( $p<0,01$ ) у односу на РСР групу. Мишићно ткиво трупа било је значајно смањено у NaCl-Н ( $p<0,05$ ), РСР-Н ( $p<0,001$ ) и РСР-С ( $p<0,05$ ) групи, док је у РСР-Н групи уочено смањење и у односу на РСР групу ( $p<0,001$ ). Укупни садржај мишићног ткива био је значајно смањен у РСР-Н ( $p<0,001$ ) и РСР-С групи ( $p<0,05$ ) у односу на контролу као и у односу на РСР групу ( $p<0,001$  и  $p<0,01$  редом).

**Табела 3.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на садржај мишићног ткива уочени 60. и 98. ПН дана код мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

МИШИЋНО ТКИВО (g)							
		NaCl	PCP	NaCl-H	PCP-H	NaCl-C	PCP-C
<b>Ноге</b>	PN 60	31,2±1,3	25±1,8**	27,8±1,5	22,4±2***	26,1±1	24±2,4**
	PN 98	36,2±1,7	42,5±2,9*	38,4±1,2	28,9±2,1**###	41±1,2	34,5±1,1##
<b>Труп</b>	PN 60	157,6±5,5	134,3±7,1*	147,8±6,6	123,1±9**	149,8±8,2	128±8,2**
	PN 98	204±4,6	201,3±7,2	184,9±2,7*	162,4±10***###	207,1±4,8	185,1±3,2*
<b>Укупно</b>	PN 60	207,2±6,8	175±8,9*	192,3±8	161,9±11,6***	192,4±9	167±12,2**
	PN 98	259,8±4,1	265,5±8,6	242,2±3,2	207,6±12***###	268,7±5,7	237,4±3,5*##

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 у поређењу са контролном групом

# p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001 у поређењу са PCP групом

#### **4.1.5. Утицај примене халоперидола и клозапина на структуру кости мужјака пацова**

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, као и третмана халоперидолом и клозапином на структуру кости мужјака пацова приказани су на слици 7 (a- f).

У групи пацова перинатално третираној фенциклидином (РСР група) запажају се следеће промене: коштано ткиво на нивоу кортикалиса показује значајну редукцију ширине кортикалне кости уз проширење Хаверзових канала, са јасно очуваном ламеларном грађом. Гредице спонгиозне кости су изразито истањене, спикларне грађе, смањене површине, уз редукцију броја међугредичних мостова и губитак њихове синцицијалности. Међугредични простори наглашено дилатирани, испуњени хематопоезном коштаном сржи (слика 7b).

Редукција коштаног ткива је присутна и у NaCl-H групи пацова, уз незнатно смањење ширине кортикалне кости, али са јасним истањењем гредица унутар медуле. Гредице показују лако до умерено смањење ширине, без значајног нарушавања међугредичних веза. Синцицијална структура спонгиозне кости је очувана. Код ових јединки се запажа смањење површине коштаних гредица, али без значајнијег проширења међугредичних простора који су испуњени хематопоезном коштаном сржи (слика 7c).

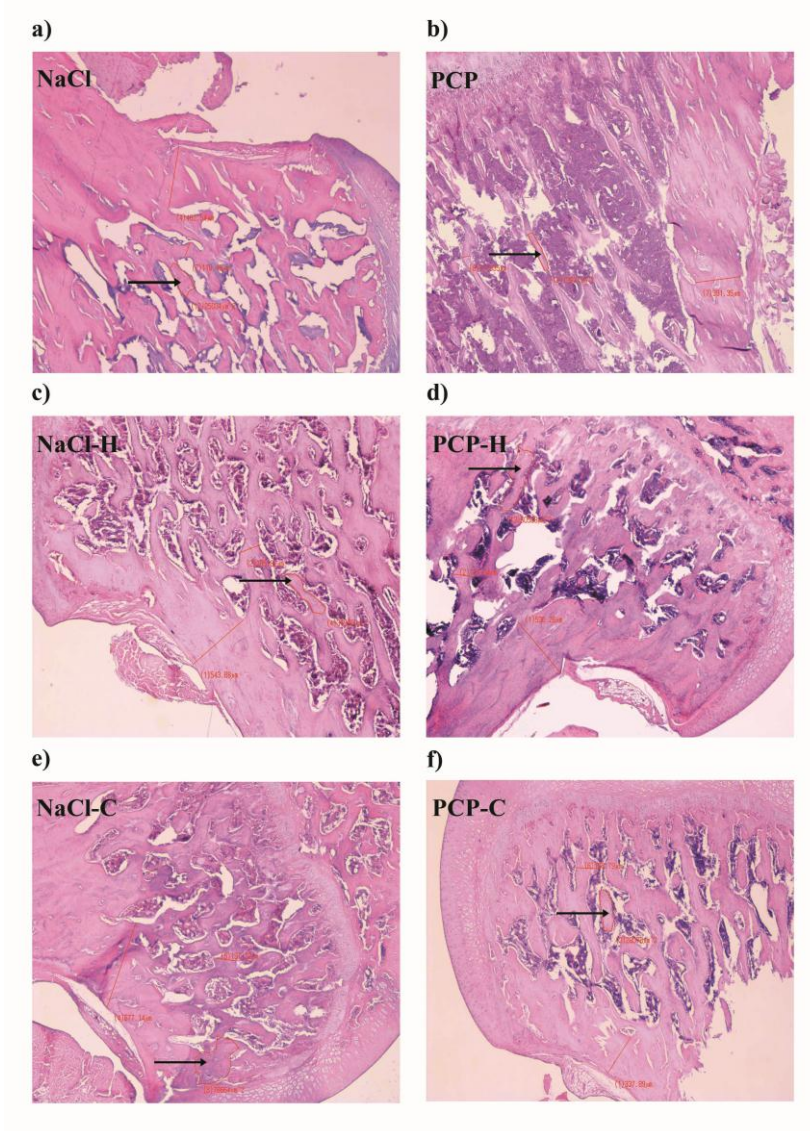
Редукција коштаног ткива се одржава и у мужјака РСР-H групе. Смањење ширине кортикалне касти је слично као код групе NaCl-H. Ширина гредица спонгиозе је лако до умерено смањена, али је зато површина коштаних гредица веома редукована. Уочава се значајни губитак међугредичних мостова и синцицијалне структуре. Нарушена грађа кости је, пре свега, последица драстичног смањења површине гредица. Проширени међугредични простори су испуњени хематопоезном коштаном сржи (слика 7d).

Морфометријском анализом фемура пацова из NaCl-C групе јасно је показано повећање коштане масе како на нивоу кортекса, тако и у спонгиози. Ширина кортикалне кости је већа у односу на све остале групе. Повећање коштане масе, које је присутно и у спонгиози, последица је веће површине гредица које стварају бројне међугредичне мостове и формирају наглашен коштани синцицијум. Ширина гредица је умерена и не одступа много у односу на



контролну групу. Богата мрежа коштаних гредица лако редукује и сужава међугредичне просторе који су испуњени хематопоезном коштаном сржи (слика 7e).

Кортикална кост показује лаку редукцију у РСР-С групи мужјака. Њена ширина је незнатно смањена, али структура и ламеларност су очувани. Стиче се утисак веома сличне грађе и организације спонгиозне кости као код РСР-Н јединки. Међутим, морфометријски је потврђено да је површина гредица код ових јединки већа. Коштане гредице у спонгиози су шире и имају већу површину и у поређењу са NaCl и РСР животињама (слика 7f).



**Слика 7.** Упоредни преглед метафизе проксималног фемура у мужјака пацова (хематоксилин-еозин, оригинално увећање  $\times 40$ ; стрелице показују на површину гредица). Хистологија фемура у а) контролној групи животиња (NaCl); б) групи перинатално третираној фенциклидином (PCP); с) групи перинатално третираној NaCl-ом а затим од 35. PN дана на третману халоперидолом (NaCl-H); д) групи перинатално третираној фенциклидином а затим од 35. PN дана на третману халоперидолом (PCP-H); е) групи перинатално третираној NaCl-ом а затим од 35. PN дана на третману клозапином (NaCl-C); ф) групи перинатално третираној фенциклидином а затим од 35. PN дана на третману клозапином (PCP-C).

#### **4.1.6. Утицај примене халоперидола и клозапина на телесну тежину и дистрибуцију масног ткива мужјака пацова**

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на телесну тежину (ТТ), тежину ретроперитонеалног (РР) и периепидидималног (РЕ) масног ткива приказани су у Табели 4.

ANOVA тестом показане су статистички значајне промене у ТТ мужјака пацова измерене 60. ПН дана [ $F(5,39)=7,95$ ;  $p<0,001$ ]. *Post hoc* анализом уочено је значајно смањење ТТ у РСР-Н групи ( $p<0,001$ ) у односу контролу и у односу на РСР групу, као и значајно повећање у NaCl-С групи ( $p<0,05$ ) у односу на контролу. ANOVA је показала сличне промене ТТ измерене 98. ПН дана [ $F(5,39)=20,84$ ;  $p<0,001$ ]. *Fisher's post hoc* тестом утврђена је значајна редукција ТТ у РСР-Н групи ( $p<0,001$ ) у односу контролу и у односу на РСР групу, као и значајно повећање у NaCl-С групи ( $p<0,01$ ) у односу на контролу. Статистичком анализом уочене су значајне промене у тежини РРмасног ткива [ $F(5,30)=2,92$ ;  $p<0,05$ ]. *Post hoc* анализом показано је значајно повећање тежине РРмасног ткива у групама третираним клозапином у односу на контролу ( $p<0,01$ ) без обзира на тип перинаталног третмана.

ANOVA тест није показао значајне разлике у тежини РЕмасног ткива између испитиваних група [ $F(5,30)=1,24$ ;  $p>0,05$ ].

**Табела 4.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на телесну тежину (ТТ), тежину ретроперитонеалног (РР) и периепидидималног (РЕ) масног ткива код мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

		NaCl	PCP	NaCl-H	PCP-H	NaCl-C	PCP-C
ТТ (g)	PN 60	230,2 $\pm$ 3	232,7 $\pm$ 3,4	223,3 $\pm$ 2,6	207,2 $\pm$ 3,9 <sup>***###</sup>	243,4 $\pm$ 7,6 <sup>*</sup>	226,4 $\pm$ 3,9
	PN 98	356,2 $\pm$ 4,7	362 $\pm$ 5,1	340,3 $\pm$ 8,8	304,4 $\pm$ 6,5 <sup>***###</sup>	386 $\pm$ 5 <sup>**</sup>	347,3 $\pm$ 4,9
РР (g)		2,5 $\pm$ 0,1	3,3 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,3	2,8 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,4 <sup>**</sup>	3,6 $\pm$ 0,4 <sup>**</sup>
РЕ (g)		2,5 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,2

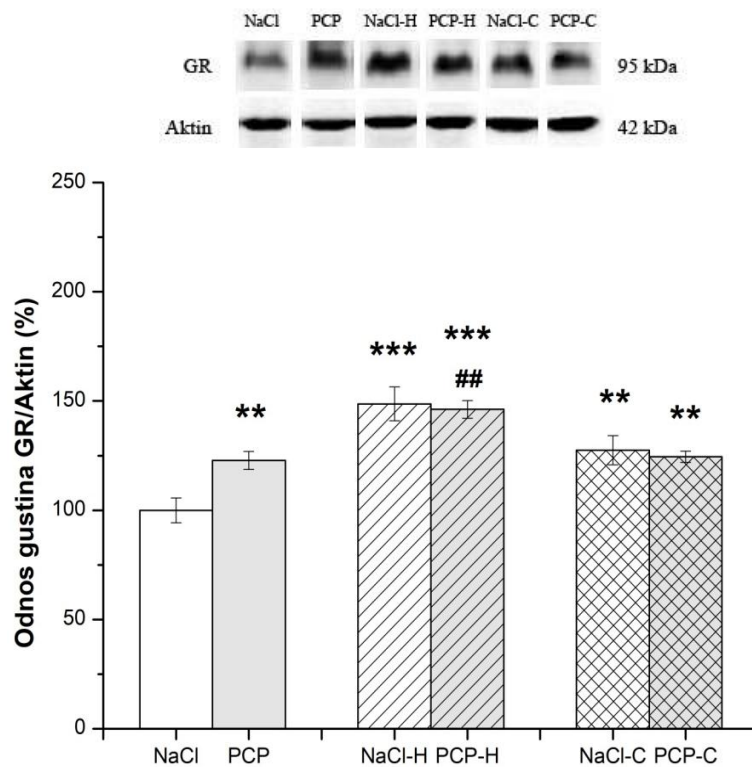
\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 у поређењу са контролном групом

### p<0,001 у поређењу са PCP групом

## **4.2. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на НРА осовину одређивањем експресије GR, pGR, HSP70, HSP90, FKBP51 и 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу, хипокампусу, таламусу и нуклеус каудатусу мозга пацова као и одређивањем нивоа кортикостерона**

### **4.2.1. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу**

Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на експресију GR у кортексу мозга пацова приказани су на графику 3. Резултати наше студије указују да је експресија GR значајно промењена у кортексу [F(5,24)=10,64; p<0,001]. Уочено је значајно повећање експресије GR у РСР (p<0,01), NaCl-Н (p<0,001) и у групама третираним клозапином (p<0,01) у поређењу са контролном групом. Такође, запажено је значајно повећање експресије у РСР-Н групи у поређењу са контролном групом (p<0,001) и РСР групом (p<0,01).

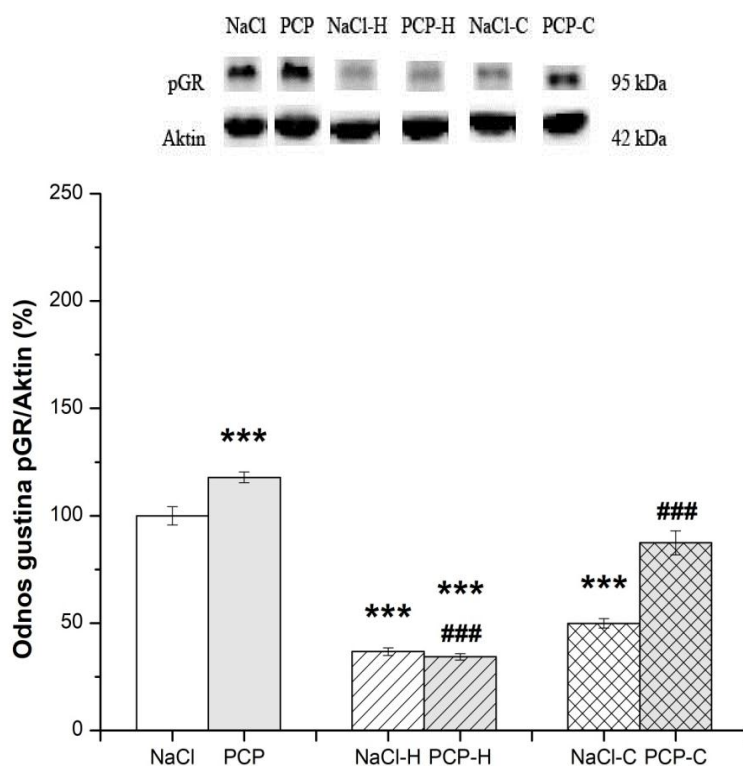


**График 3.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију GR у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  у поређењу са контролном групом

## $p < 0.01$  у поређењу са PCP групом

ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији pGR [F(5,24)=17,12; p<0,001] у кортексу. *Post hoc* анализом уочено је статистички значајно повећање експресије pGR у PCP (p<0,001) групи, као и значајно смањење експресије у NaCl-H и NaCl-C групи (p<0,001) у односу на контролу. Такође, експресија pGR је била значајно смањена у PCP-H групи у односу на контролу и PCP групу (p<0,001) као и у PCP-C групи у односу на PCP групу (p<0,001) (график 4).

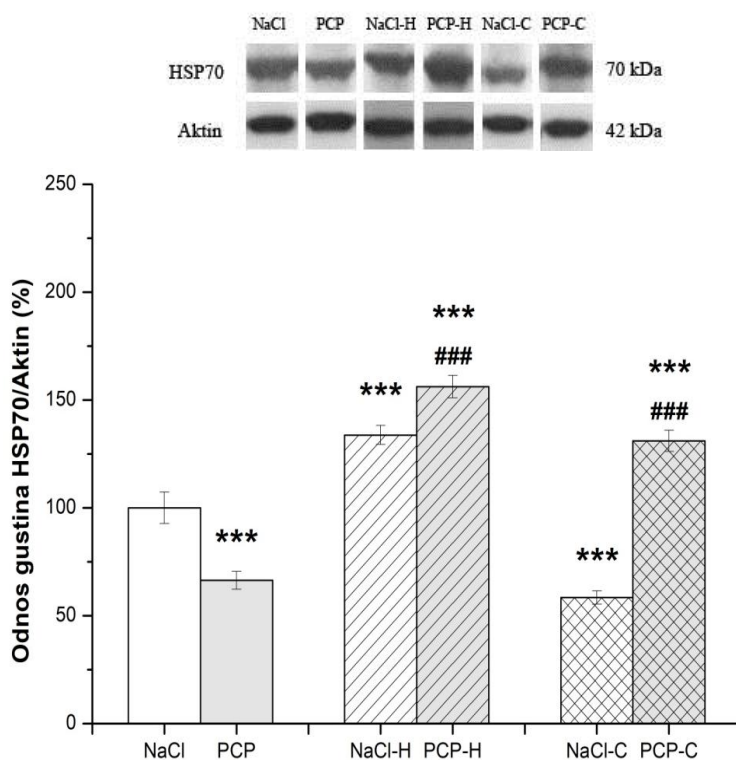


**График 4.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију pGR у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*\*p<0,001 у поређењу са контролном групом

###p<0,001 у поређењу са PCP групом

Резултати наше студије указују на значајне промене у експресији HSP70 у кортексу [ $F(5,24)=62,15$ ;  $p<0,001$ ]. Уочено је значајно смањење експресије HSP70 у РСР и NaCl-C групи ( $p<0,001$ ) као и значајно повећање експресије у групама третираним халоперидолом и РСР-C групи ( $p<0,001$ ) у односу на контролу. Такође, у РСР-H и РСР-C групи експресија HSP70 је била значајно повећана ( $p<0,001$ ) у односу на РСР групу (график 5).



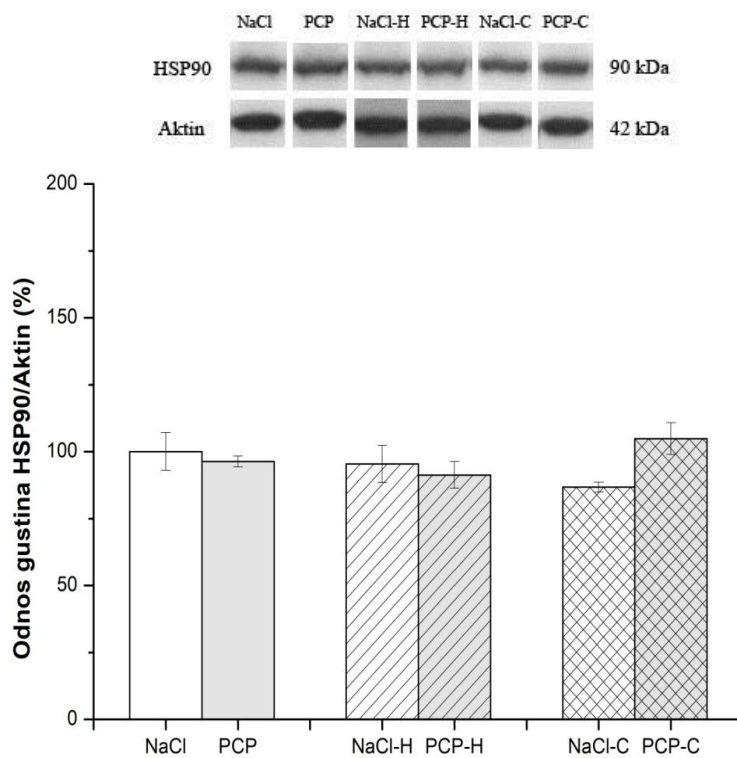
**График 5.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP70 у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*\* $p<0,001$  у поређењу са контролном групом

### $p<0,001$  у поређењу са РСР групом

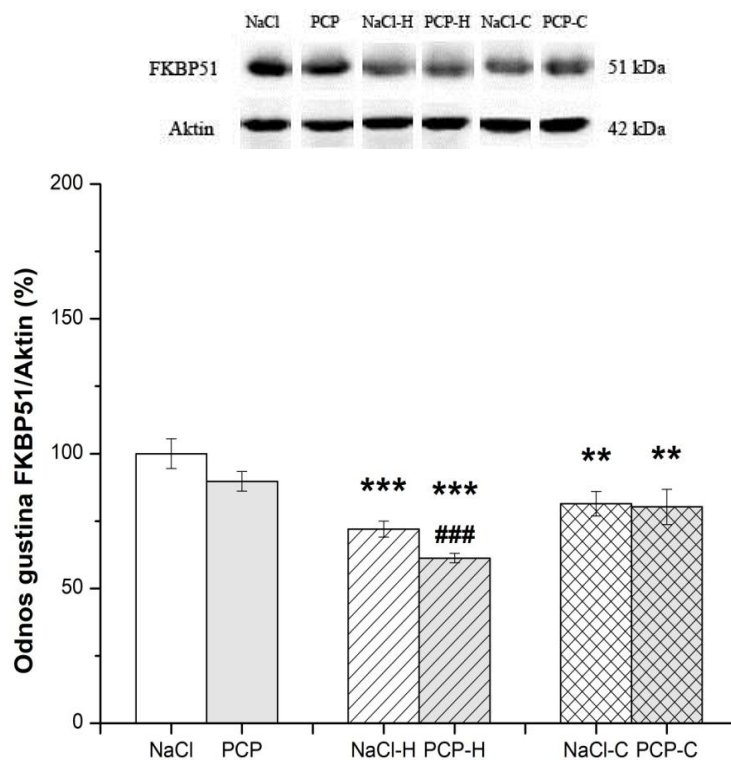


Анализом добијених резултата нису уочене промене у експресији HSP90 у кортексу испитиваних група [ $F(5,24)=1,46$ ;  $p>0,05$ ] (график 6).



**График 6.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP90 у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији FKBP51 [F(5,24)=9,24; p<0,001] у кортексу. Fisher's post hoc тестом утврђено је значајно смањење експресије FKBP51 у групама третираним халоперидолом (p<0,001) као и клозапином (p<0,01) у односу на контролу. Такође, експресија FKBP51 је била значајно смањена у РСР-Н групи у односу на РСР групу (p<0,001) (график 7).

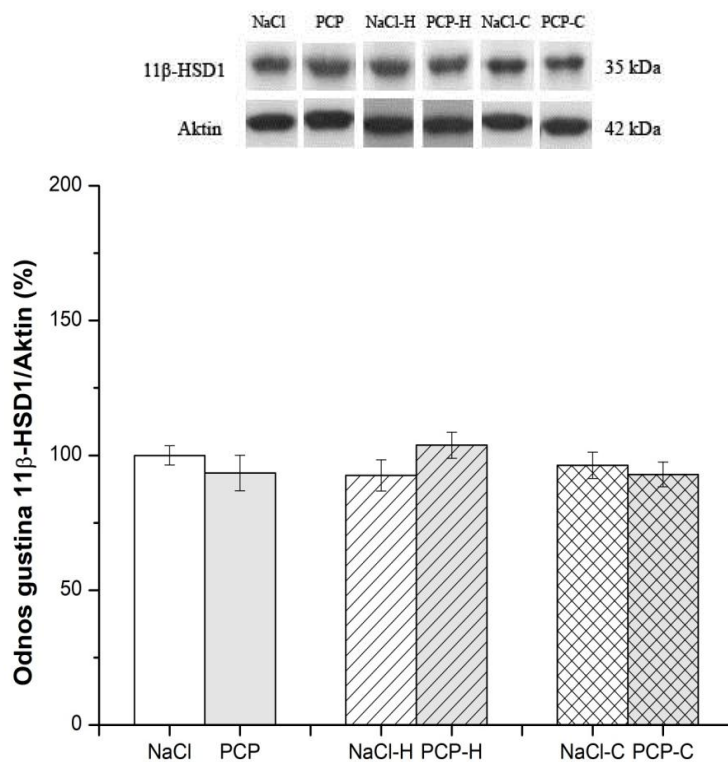


**График 7.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију FKBP51 у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*p<0,01;\*\*\*p<0,001 у поређењу са контролном групом

###p<0,001 у поређењу са РСР групом

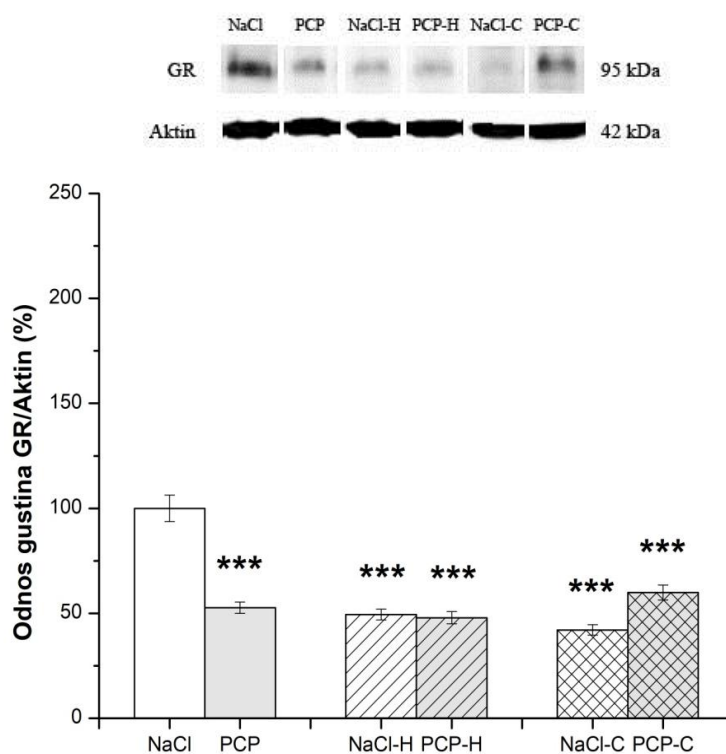
Анализом добијених резултата нису уочене промене у експресији 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу испитиваних група [F(5,24)=0,78; p>0,05] (график 8).



**График 8.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију 11 $\beta$ -HSD1 у кортексу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

#### 4.2.2. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у хипокампусу

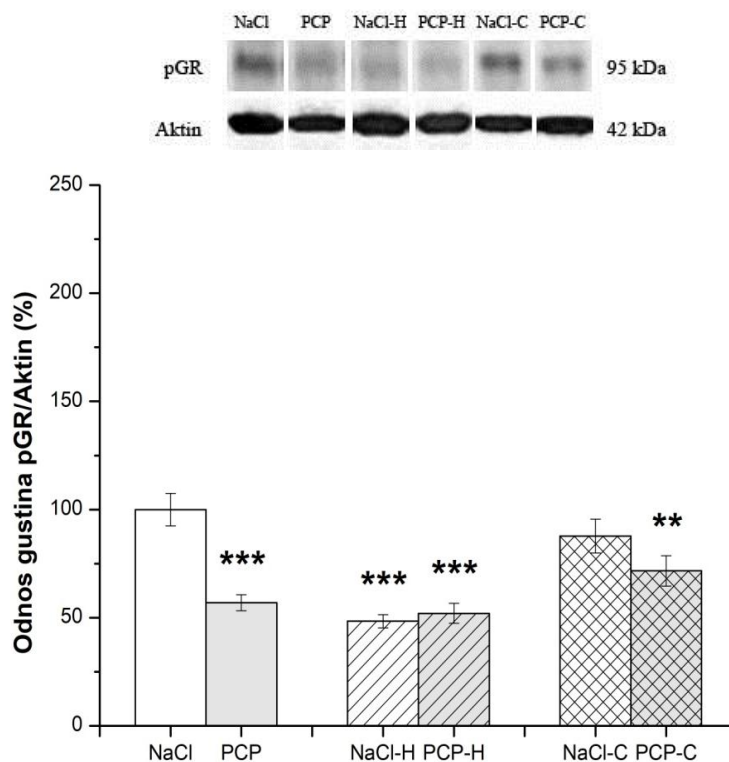
Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на експресију GR у хипокампусу мозга пацова приказани су на графику 9. ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији GR [F(5,24)=33,02; p<0,001]. Резултати указују на значајно смањење експресије GR у свим експерименталним групама у односу на контролу (p<0,001).



**График 9.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију GR у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*\*p<0,001 у поређењу са контролном групом

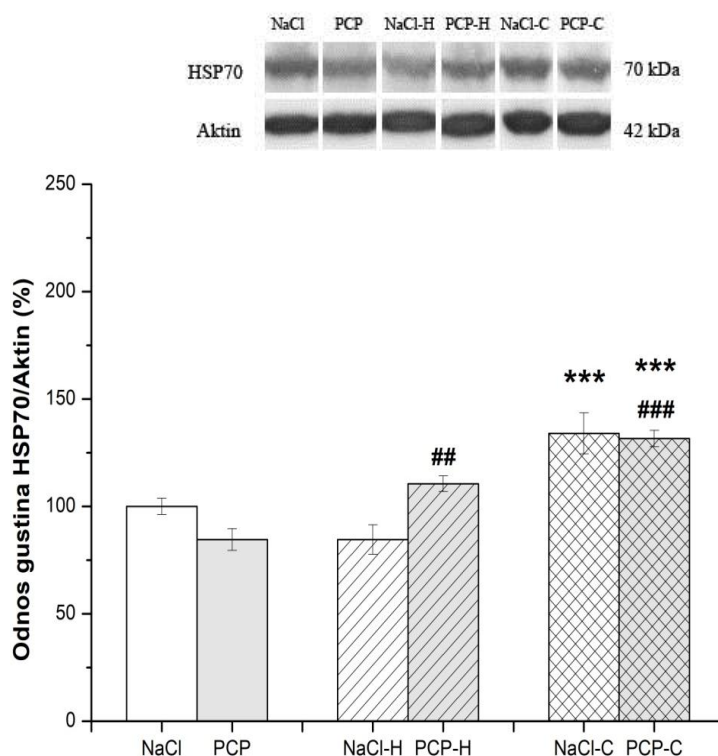
Анализом добијених резултата уочене су значајне промене у експресији pGR [F(5,24)=12,38; p<0,001]. *Post hoc* тестом показано је значајно смањење експресије pGR у PCP групи и групама третираним халоперидолом (p<0,001), као и у PCP-C групи (p<0,01) у односу на контролу (график 10).



**График 10.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију pGR у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*p<0,01;\*\*\*p<0,001 у поређењу са контролном групом

Резултати наше студије указују да је експресија HSP70 значајно промењена у хипокампусу [ $F(5,24)=14,07$ ;  $p<0,001$ ]. Хронична примена клозапина значајно повећава експресију HSP70 у хипокампусу без обзира на тип перинаталног третмана ( $p<0,001$ ) у поређењу са контролном групом. Такође, експресија HSP70 је значајно повећана у РСР-Н ( $p<0,01$ ) и РСР-С ( $p<0,001$ ) групи у односу на РСР групу (график 11).

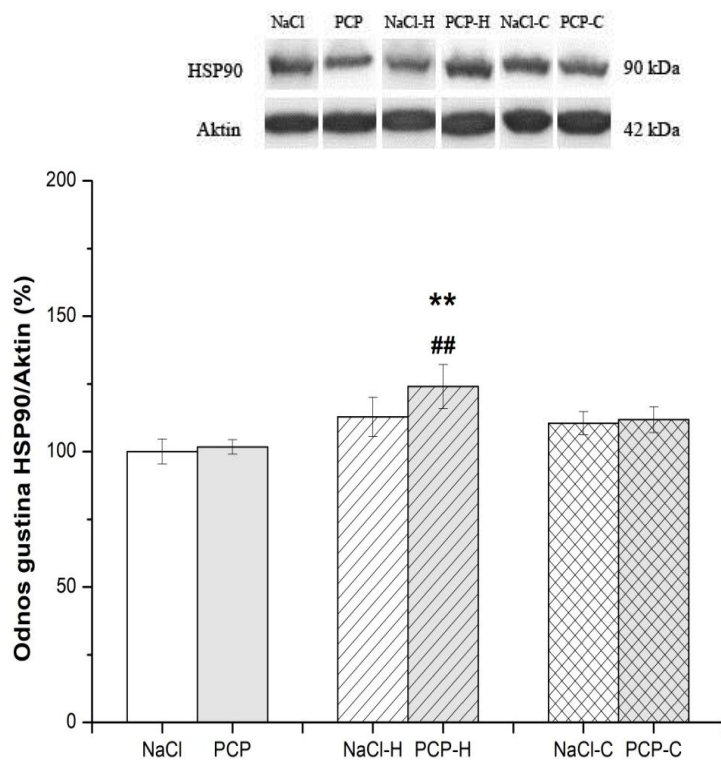


**График 11.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP70 у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*\*  $p<0,001$  у поређењу са контролном групом

##  $p<0,01$ ; ###  $p<0,001$  у поређењу са РСР групом

ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији HSP90 [F(5,24)=2,41; p<0,05] у хипокампусу. Резултати указују на значајно повећање експресије HSP90 у РСР-Н групи (p<0,01) у односу на контролу и у односу на РСР групу (график 12).

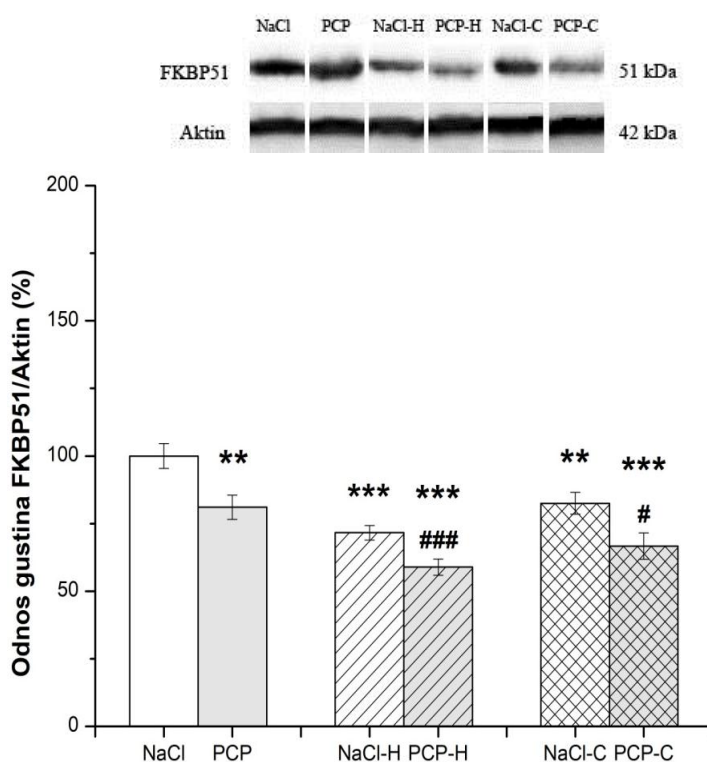


**График 12.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP90 у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\* p<0,01 у поређењу са контролном групом

## p<0,01 у поређењу са РСР групом

Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на експресију FKBP51 у хипокампусу мозга пацова приказани су на графику 13. Анализом добијених резултата уочене су значајне промене у експресији FKBP51 [ $F(5,24)=12,92$ ;  $p<0,001$ ]. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно смањење експресије овог протеина у РСР ( $p<0,01$ ), NaCl-H, РСР-H групи ( $p<0,001$ ), NaCl-C ( $p<0,01$ ) и РСР-C групи ( $p<0,001$ ) у односу на контролу. Такође, експресија FKBP51 је значајно смањена у РСР-H ( $p<0,001$ ) и РСР-C ( $p<0,05$ ) групи у поређењу са РСР групом.



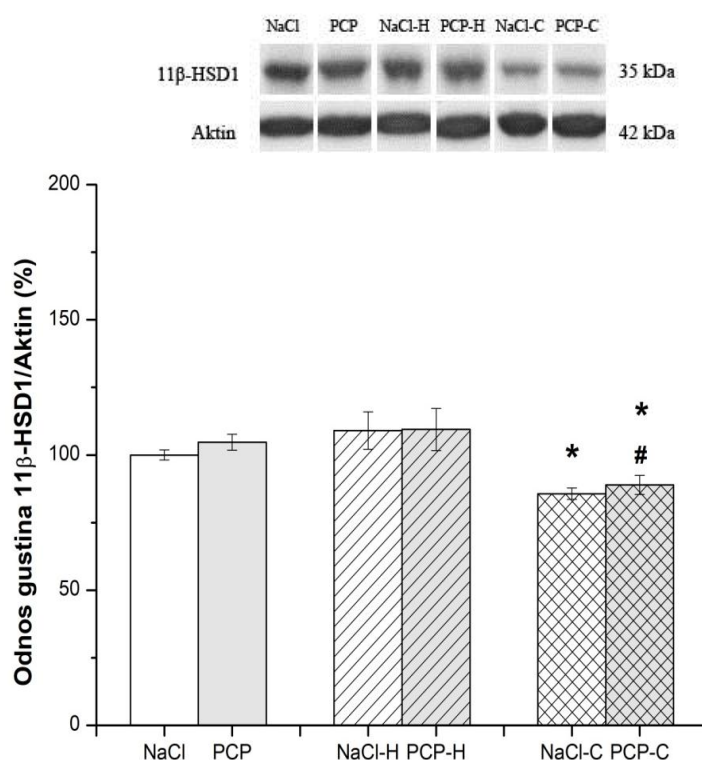
**График 13.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију FKBP51 у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$  у поређењу са контролном групом

#  $p<0,05$ ; ###  $p<0,001$  у поређењу са РСР групом



Анализом добијених резултата уочене су значајне промене [F(5,24)=4,52;  $p < 0,01$ ] у експресији 11 $\beta$ -HSD1 (график 14). *Post hoc* тестом показано је значајно смањење експресије 11 $\beta$ -HSD1 у групама третираним клозапином без обзира на тип перинаталног третмана ( $p < 0,05$ ) у поређењу са контролном групом. Експресија 11 $\beta$ -HSD1 је значајно смањена и у PCP-C групи у односу на PCP групу ( $p < 0,05$ ).



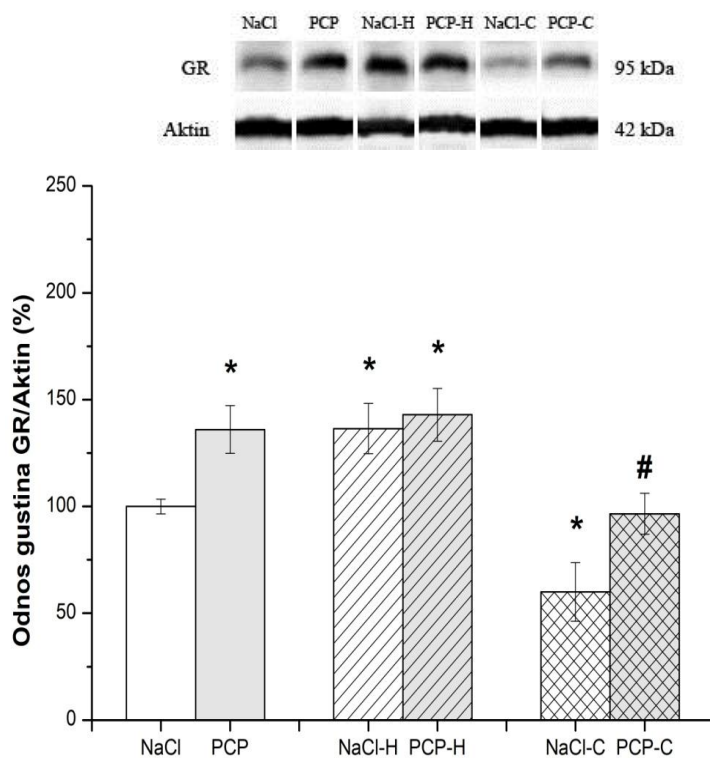
**График 14.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију 11 $\beta$ -HSD1 у хипокампусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*  $p < 0,05$  у поређењу са контролном групом

#  $p < 0,05$  у поређењу са PCP групом

#### 4.2.3. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у таламусу

Резултати наше студије указују на значајне промене у експресији GR у таламусу [F(5,24)=8,84; p<0,001]. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно повећање експресије GR у PCP групи и у групама третираним халоперидолом (p<0,05) у односу на контролу, као и значајно смањење експресије у NaCl-C групи (p<0,05) односу на контролу. Такође, уочено је значајно смањење експресије GR у PCP-C групи у односу на PCP групу (p<0,05) (график 15).

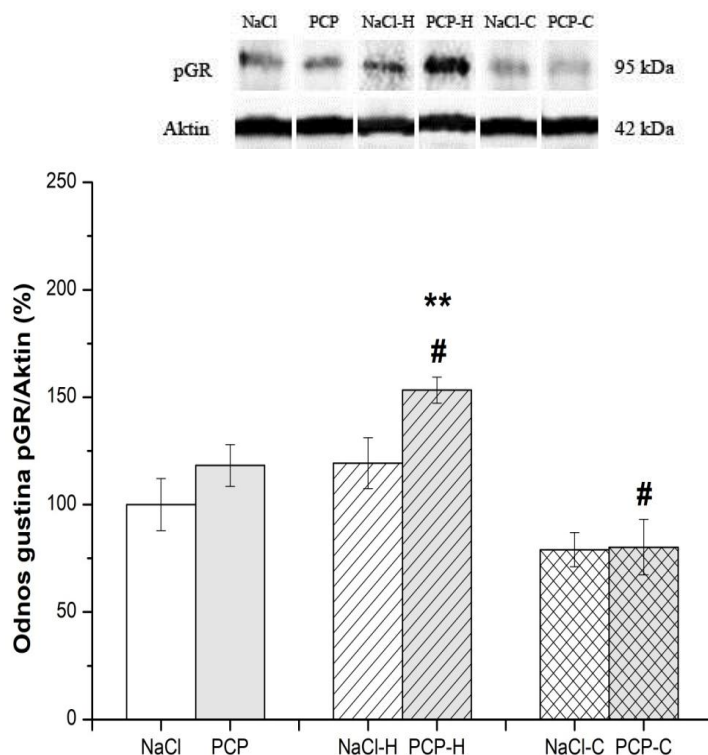


**График 15.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију GR у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* p<0,05 у поређењу са контролном групом

# p<0,05 у поређењу са PCP групом

Анализом добијених резултата уочене су значајне промене у експресији pGR [F(5,24)=7,35; p<0,001]. *Post hoc* тестом показано је значајно повећање експресије pGR у PCP-H групи у односу на контролу (p<0,01) и у односу на PCP групу (p<0,05). Експресија pGR је била значајно смањена у PCP-C групи у односу на PCP групу (p<0,05) (график 16).

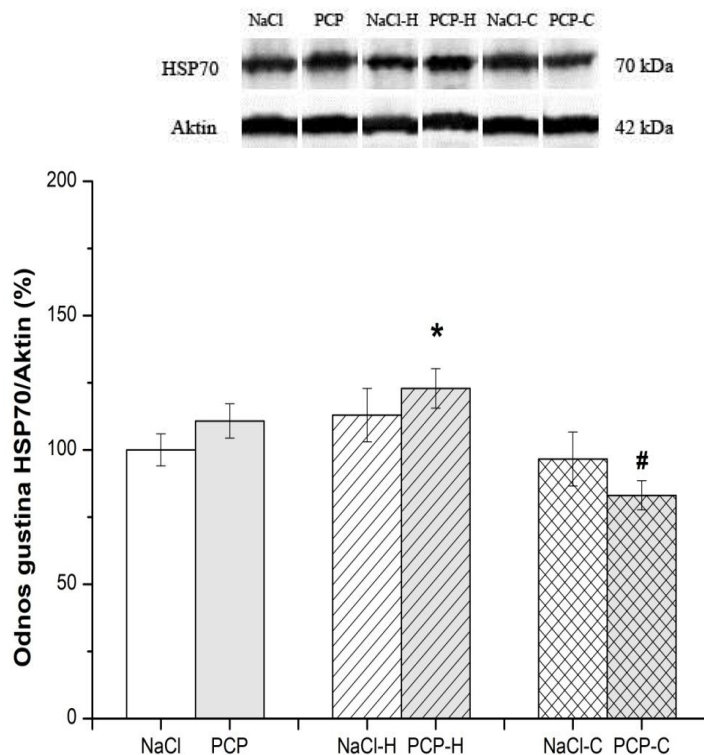


**График 16.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију pGR у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*p<0,01 у поређењу са контролном групом

#p<0,05 у поређењу са PCP групом

ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији HSP70 [F(5,24)=3,30; p<0,05]. Резултати указују на значајно повећање експресије HSP70 у PCP-H групи у односу на NaCl grupу (p<0,05). Такође, експресија HSP70 је значајно смањена у PCP-C групи у односу на PCP grupу (p<0,05) (график 17).

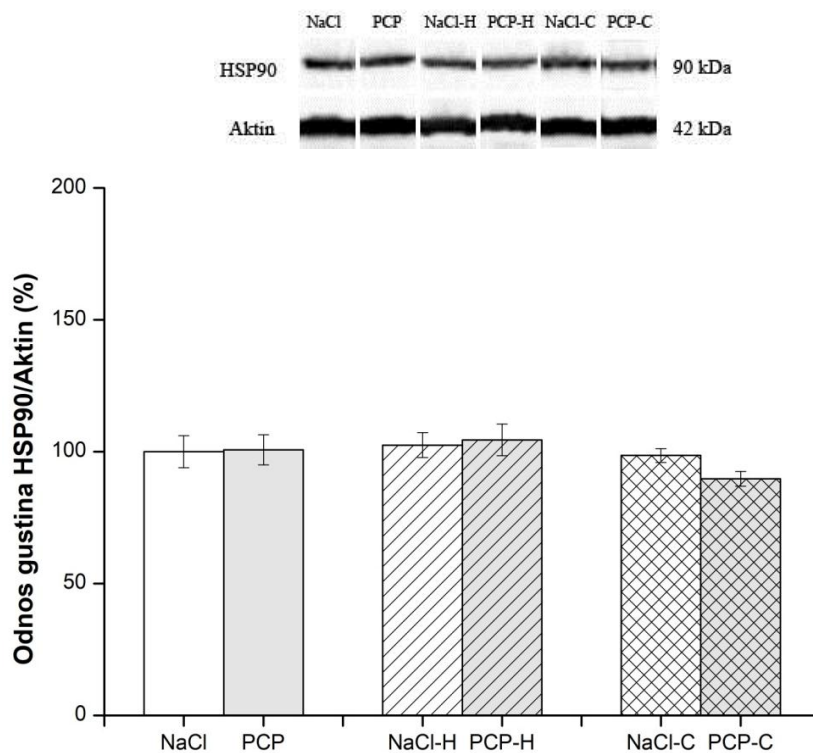


**График 17.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP70 у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*p<0,05 у поређењу са контролном групом

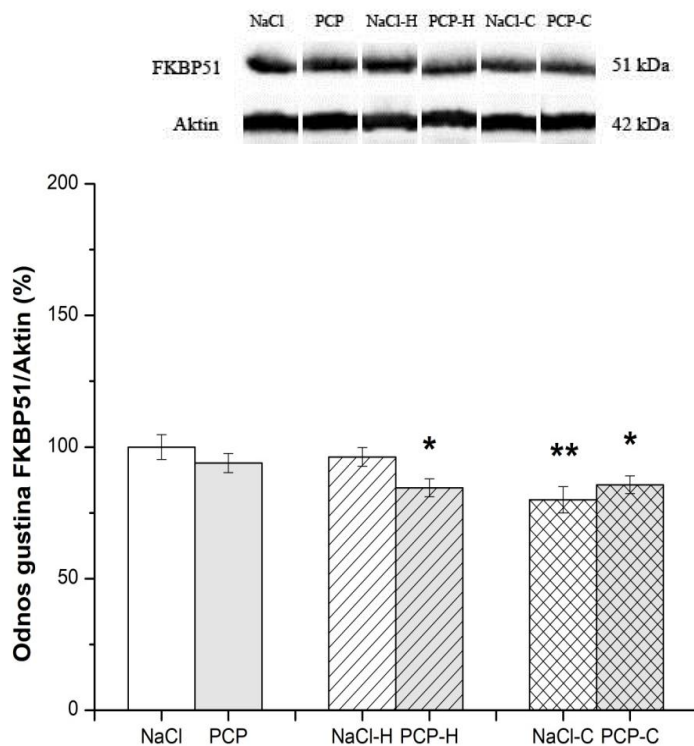
#p<0,05 у поређењу са PCP групом

Анализом добијених резултата нису уочене промене у експресији HSP90 у таламусу испитиваних група [ $F(5,24)=1,11$ ;  $p>0,05$ ] (график 18).



**График 18.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP90 у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

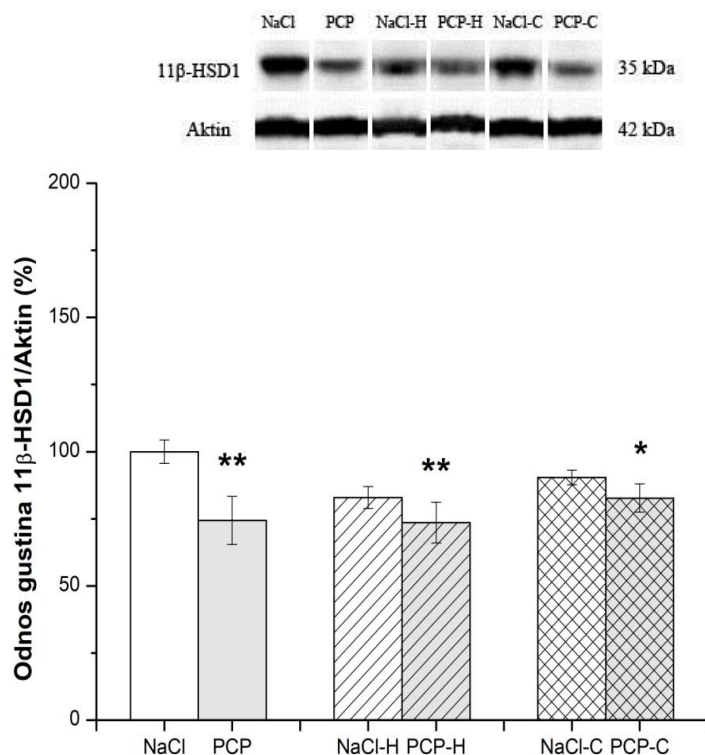
ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији FKBP51 [F(5,24)=3,82; p<0,05]. Fisher's post hoc тестом утврђено је значајно смањење експресије FKBP51 у PCP-H (p<0,05), NaCl-C (p<0,01) и PCP-C групи (p<0,05) у односу на контролу (график 19).



**График 19.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију FKBP51 у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*p<0,05; \*\*p<0,01 у поређењу са контролном групом

Резултати наше студије указују на значајне промене у експресији 11 $\beta$ -HSD1 у таламусу [F(5,24)= 2,87; p<0,05]. Анализом добијених резултата уочава се значајно смањење експресије 11 $\beta$ -HSD1 у РСР и РСР-Н групи (p<0,01) као и РСР-С групи (p<0,05) у односу на контролу (график 20).

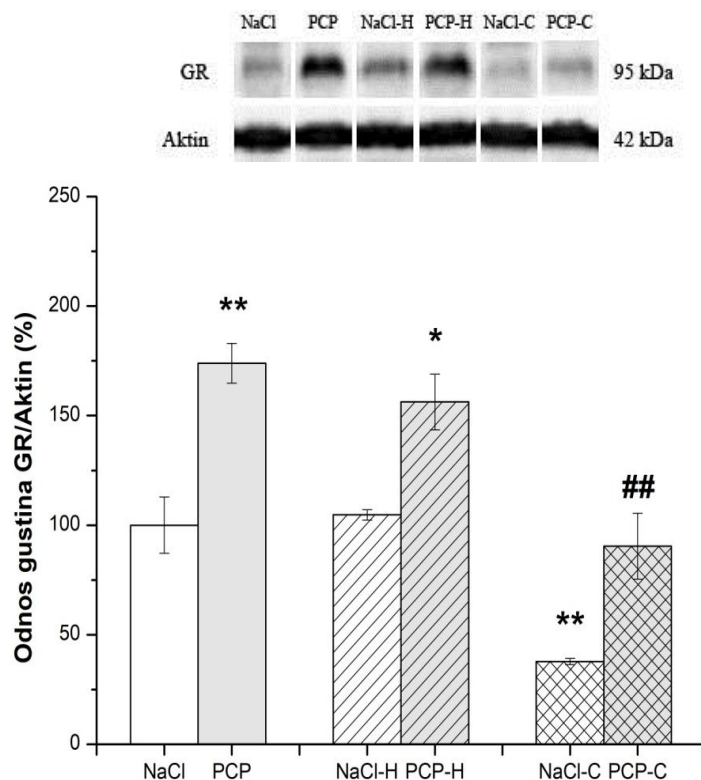


**График 20.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију 11 $\beta$ -HSD1 у таламусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* p<0,05; \*\* p<0,01 у поређењу са контролном групом

#### 4.2.4. Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на активност GR рецептора и експресију 11 $\beta$ -HSD1 у нуклеус каудатусу

Ефекти перинаталне примене фенциклидина и антипсихотика на експресију GR у нуклеус каудатусу мозга пацова приказани су на графику 21. ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији GR [F(5,24)=22,24; p<0,001]. *Fisher's post hoc* тестом утврђено је значајно повећање експресије GR у PCP (p<0,01) и PCP-H групи (p<0,05) у поређењу са контролом и значајно смањење експресије у NaCl-C групи (p<0,01) у односу на контролу. Такође, експресија GR је била значајно смањена у PCP-C групи у односу на PCP групу (p<0,01).



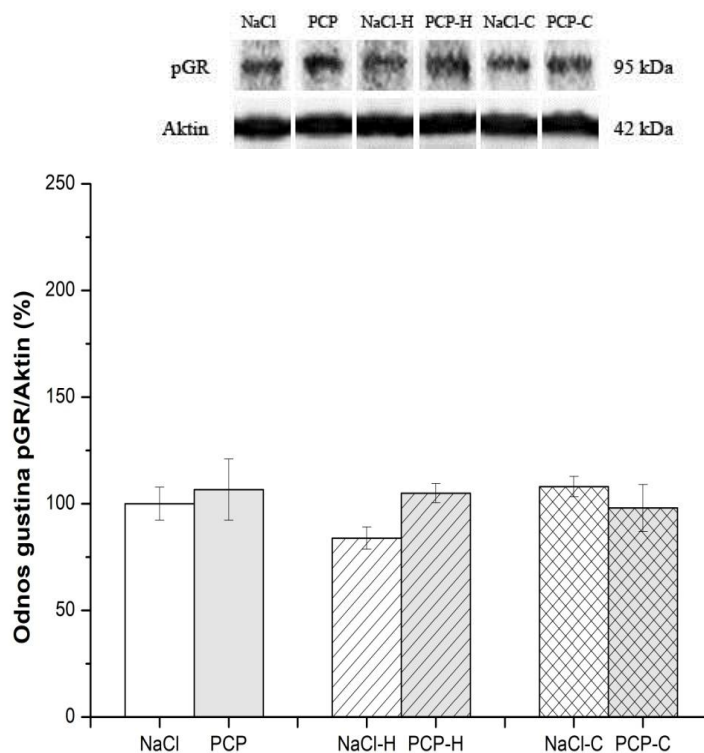
**График 21.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију GR у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* p<0,05; \*\* p<0,01 у поређењу са контролном групом

## p<0,01 у поређењу са PCP групом

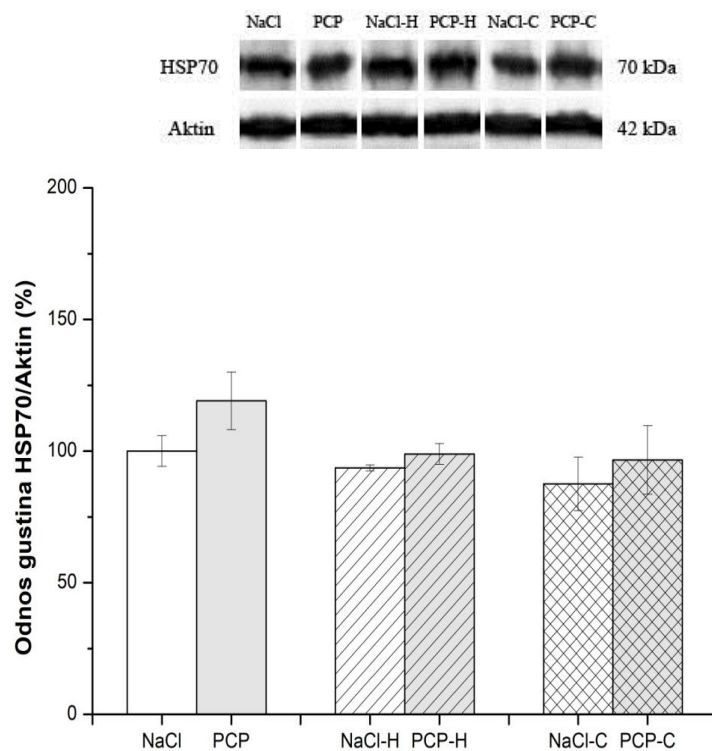


Анализом добијених резултата нису уочене промене у експресији pGR у нуклеус каудатусу испитиваних група [ $F(5,24)= 1,04$ ;  $p>0,05$ ] (график 22).



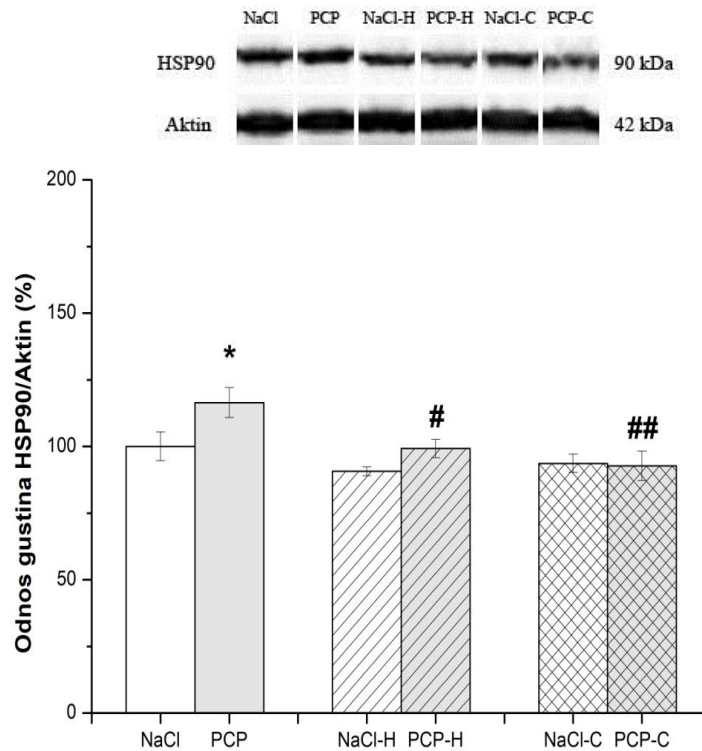
**График 22.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију pGR у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

Такође, ANOVA тестом нису уочене промене у експресији HSP70 између испитиваних група [ $F(5,24)= 1,54$ ;  $p>0,05$ ] (график 23).



**График 23.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP70 у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

Резултати наше студије указују на значајне промене у експресији HSP90 [F(5,24)=4,52; p<0,01]. Анализом добијених резултата уочава се значајно повећање експресије HSP90 у PCP групи (p<0,05) у односу на контролу. Експресија HSP90 је била значајно смањена у PCP-H (p<0,05) и PCP-C групи (p<0,01) у односу на PCP групу (график 24).

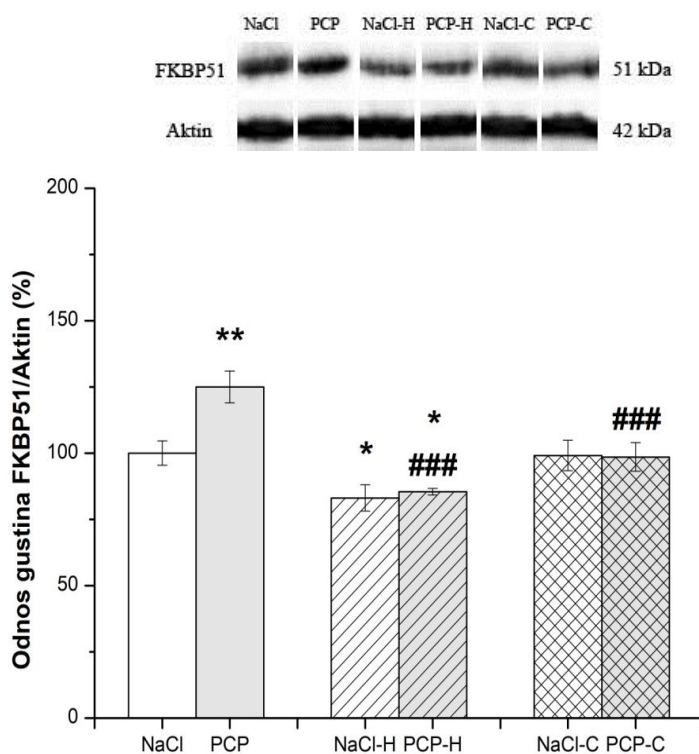


**График 24.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију HSP90 у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* p<0,05 у поређењу са контролном групом

# p<0,05; ## p<0,01 у поређењу са PCP групом

ANOVA тестом показане су значајне промене у експресији FKBP51 [F(5,24)= 9,21; p<0,001] у нуклеус каудатусу. Fisher's *post hoc* тестом утврђено је значајно повећање експресије FKBP51 у РСР групи (p<0,01) и значајно смањење експресије у групама третираним халоперидолом (p<0,05) у односу на контролу. Такође, експресија FKBP51 је била значајно смањена у РСР-Н и РСР-С групи (p<0,001) у односу на РСР групу (график 25).

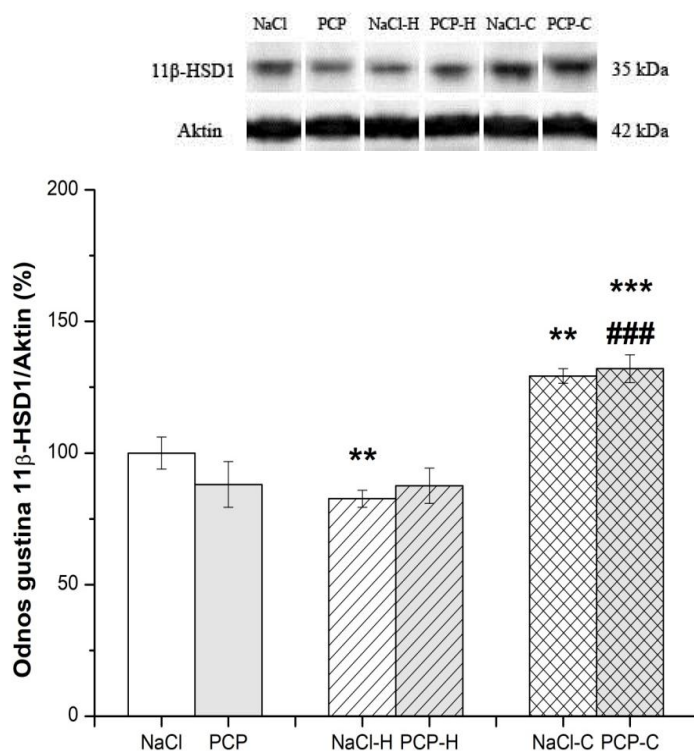


**График 25.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију FKBP51 у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\* p<0,05 у поређењу са контролном групом

### p<0,001 у поређењу са РСР групом

Анализом добијених резултата уочене су значајне промене [F(5,24)=14,2; p<0,001] у експресији 11β-HSD1 (график 26). *Post hoc* тестом показано је значајно смањење експресије 11β-HSD1 у NaCl-H групи (p<0,01) и значајно повећање експресије у NaCl-C (p<0,01) и PCP-C (p<0,001) групи у поређењу са контролом. Такође, експресија 11β-HSD1 је била значајно повећана у PCP-C групи (p<0,001) у односу на PCP групу.



**График 26.** Ефекат перинаталне примене фенциклидина и хроничног третмана халоперидолом и клозапином на експресију 11β-HSD1 у нуклеус каудатусу пацова. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

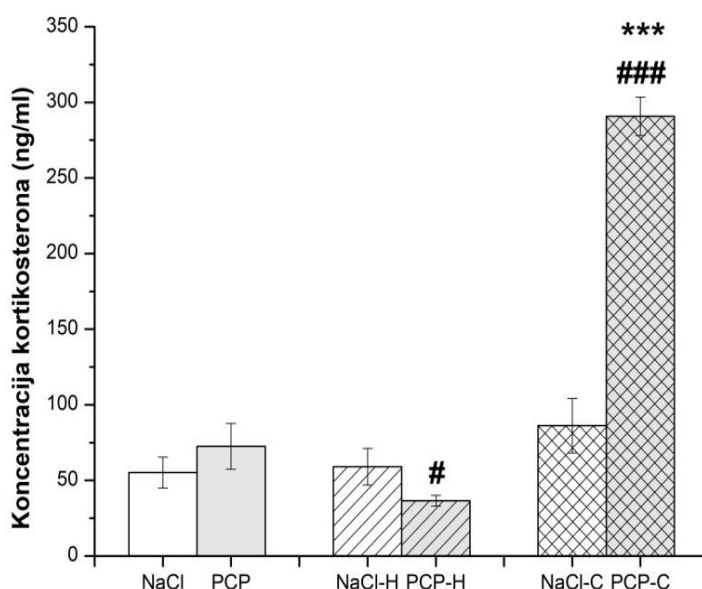
\*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 у поређењу са контролном групом

### p<0,001 у поређењу са PCP групом

#### 4.2.5. Концентрација кортикостерона у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију кортикостерона у серуму мужјака пацова приказани су на графику 27.

ANOVA тестом уочене су статистички значајне промене у концентрацији кортикостерона [ $F(5,34)=53,79$ ;  $p<0,001$ ] у серуму животиња из испитиваних група. *Post hoc* анализом показано је статистички значајно смањење концентрације кортикостерона у РСР-Н групи ( $p<0,05$ ) у односу на РСР групу, као и значајно повећање концентрације кортикостерона у РСР-С групи ( $p<0,001$ ) у односу на контролну и у односу на РСР групу.



**График 27.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију кортикостерона у серуму мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*\*  $p<0,001$  у поређењу са контролном групом

#  $p<0,05$ ; ###  $p<0,001$  у поређењу са РСР групом

### 4.3. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију пролактина, глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова

#### 4.3.1. Концентрација пролактина у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију пролактина у серуму мужјака пацова приказани су у Табели 5.

Анализом добијених резултата нису уочене промене у концентрацији пролактина у серуму пацова из испитиваних група [ $F(5,34)=0,47$ ;  $p>0,05$ ].

**Табела 5.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију пролактина у серуму мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

	NaCl	PCP	NaCl-H	PCP-H	NaCl-C	PCP-C
Пролактин (ng/ml)	0,16 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,04

#### 4.3.2. Концентрација глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму мужјака пацова приказани су у Табели 6.

Концентрација глукозе у серуму животиња свих експерименталних група била је у референтном опсегу који за мужјаке износи 5,0-12,2 mmol/L. Анализа резултата указује на статистички значајне промене у концентрацији глукозе између експерименталних група [ $F(5,30)=2,25$ ;  $p<0,05$ ]. *Post hoc* анализа је показала значајну редукцију глукозе у PCP групи ( $p<0,05$ ) у односу на контролу.

Концентрација холестерола у серуму животиња свих експерименталних група била је у референтном опсегу који за мужјаке износи 1,8-3,6 mmol/L. ANOVA тестом уочене су статистички значајне промене у концентрацији холестерола [ $F(5,30)=6,48$ ;  $p<0,001$ ] у серуму животиња из испитиваних група. Интересантно, концентрација холестерола је била значајно повећана у свим експерименталним групама ( $p<0,05$  за РСР групу;  $p<0,001$  за NaCl-Н, РСР-Н, NaCl-С и РСР-С групе) у односу на контролну групу.

Концентрација триацилглицерола у серуму животиња свих експерименталних група била је такође у референтном опсегу (0,7-5,12 mmol/L). Уочена је значајна разлика у концентрацији триацилглицерола [ $F(5,30)=2,78$ ;  $p<0,05$ ] где је применом *post hoc* анализе уочена значајна редукција у РСР-Н групи ( $p<0,05$ ) и високо статистички значајна редукција у NaCl-С и РСР-С групи ( $p<0,01$ ) у односу на контролу.

**Табела 6.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

	NaCl	PCP	NaCl-Н	PCP-Н	NaCl-С	PCP-С
<b>Глукоза</b> (mmol/L)	8,34 $\pm$ 0,39	7,33 $\pm$ 0,19*	7,73 $\pm$ 0,27	7,60 $\pm$ 0,32	8,61 $\pm$ 0,49	8,08 $\pm$ 0,13
<b>Холестерол</b> (mmol/L)	1,00 $\pm$ 0,02	1,18 $\pm$ 0,06*	1,25 $\pm$ 0,05***	1,28 $\pm$ 0,05***	1,36 $\pm$ 0,04***	1,26 $\pm$ 0,06***
<b>Триацил глицероли</b> (mmol/L)	1,98 $\pm$ 0,14	1,73 $\pm$ 0,09	1,73 $\pm$ 0,09	1,50 $\pm$ 0,15*	1,37 $\pm$ 0,14**	1,43 $\pm$ 0,18**

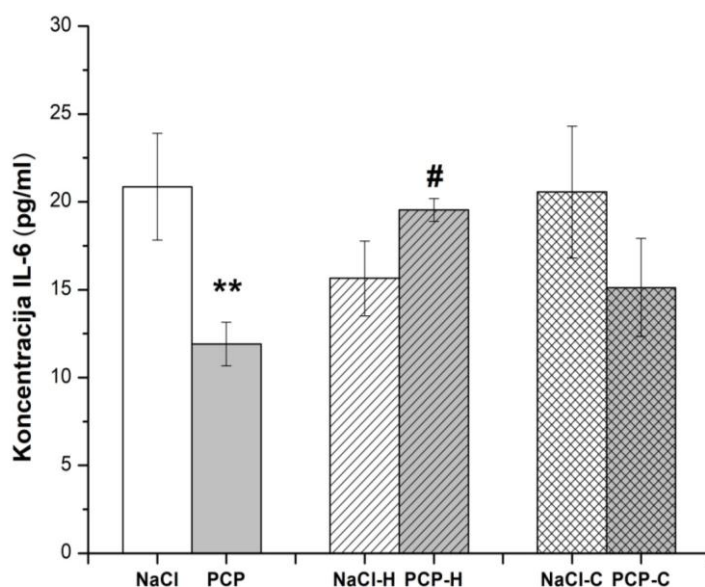
\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$  у поређењу са контролном групом



#### 4.4. Дугорочни утицај примене халоперидола и клозапина на концентрацију IL-6 и TNF- $\alpha$

##### 4.4.1. Концентрација IL-6 у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију IL-6 у серуму мужјака пацова приказани су на графику 28. ANOVA тестом уочене су статистички значајне промене у концентрацији IL-6 [F(5,30)=1,77;  $p < 0,05$ ]. Применом *post hoc* анализе уочено је значајно смањење концентрације IL-6 у PCP групи ( $p < 0,01$ ) у односу на контролу и значајно повећање концентрације IL-6 у PCP-H групи ( $p < 0,05$ ) у односу на PCP групу.



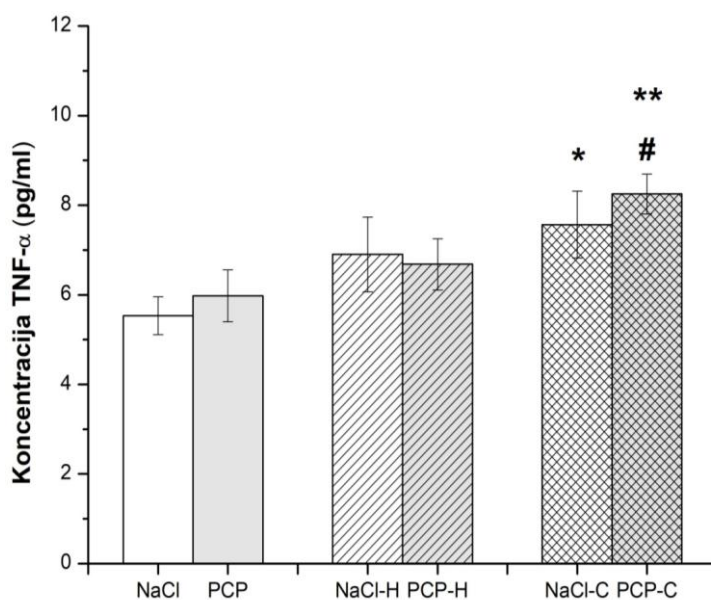
**График 28.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију IL-6 у серуму мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*\*  $p < 0,01$  у поређењу са контролном групом

#  $p < 0,05$  у поређењу са PCP групом

#### 4.4.2. Концентрација TNF- $\alpha$ у серуму пацова након третмана халоперидолом и клозапином

Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију TNF- $\alpha$  у серуму мужјака пацова приказани су на графику 29. ANOVA тестом уочене су статистички значајне промене у концентрацији TNF- $\alpha$  [F(5,30)=2,53;  $p<0,05$ ]. Концентрација TNF- $\alpha$  је била значајно повећана у NaCl-C групи ( $p<0,05$ ) у односу на контролу. Такође, уочено је значајно повећање концентрације TNF- $\alpha$  у PCP-C групи у односу на контролу ( $p<0,01$ ) и у односу на PCP групу ( $p<0,05$ ).



**График 29.** Ефекти перинаталне примене фенциклидина, халоперидола и клозапина на концентрацију TNF- $\alpha$  у серуму мужјака пацова. Резултати су приказани као средња вредност  $\pm$  S.E.M. за методолошки дефинисан број животиња.

\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$  у поређењу са контролном групом

#  $p<0,05$  у поређењу са PCP групом

## 5. ДИСКУСИЈА

Схизофренија је веома тешко, хронично неуропсихијатријско обољење које оптерећује пацијенте, њихове породице и друштво у целини због израженог морбидитета и морталитета (Freedman, 2003). Карактерише се комплексном променом више неуротрансмитерских система за које се сматра да учествују у етиопатогенези болести. Код оболелих од схизофреније често се запажају поремећаји физичког здравља који се повезују са терапијом антипсихотицима. Тако су описани поремећаји метаболизма костију (Pouwels и сар. 2009), регулације концентрације глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму, повећање телесне тежине (Reid, 2008) као и повећан ризик од кардиоваскуларних болести (Ballon и сар. 2014). Поред тога, код оболелих од схизофреније су показани такође и поремећај НРА осовине, повећање секреције глукокортикоида, као и смањена експресија глукокортикоидног рецептора у кортексу и хипокампусу (Bradley и Dinan, 2010). Тачан механизам којим антипсихотици доводе до промена у телесној тежини, промена квалитета костију као и поремећаја метаболизма још увек није довољно познат. Такође, још увек није разјашњено да ли се сама болест карактерише запаженим променама или начин живота оболелих (пушење, седентарни начин живота, исхрана, недостатак витамина Д) заједно са третманом антипсихотицима доводе до уочених промена. Покушаји разумевања узрочних механизма и идентификације биомаркера специфичних за схизофренију довели су до развоја анималних модела (Jones и сар. 2011). Један од актуелних фармаколошких анималних модела ове болести је перинатална администрација РСР-а глодарима (Radonјић и сар. 2010; Wang и сар. 2001). У овој студији, пратили смо утицај терапије халоперидолом и клозапином на кости, телесни састав, НРА осовину, метаболичке параметре и проинфламаторне цитокине код мужјака пацова у фенциклидинском анималном моделу схизофреније.

Брига о здрављу костију је дуго била потискивана у страну у поређењу са све значајнијим препознавањем и решавањем метаболичких проблема и проблема са гојазношћу код пацијената оболелих од схизофреније. Пре око 30 година

појавила су се прва истраживања која су указивала на већу учесталост остеопорозе и остеопоротичних фрактура код SCH пацијената (Higuchi и сар. 1987; Delva и сар. 1989). У последње време, велики број истраживања је потврдио да оболели од SCH имају повећани ризик за настанак остеопорозе. У нашој студији, праћена је динамика промена на костима пацова перинатално третираних фенциклидином и изложених каснијем хроничном дејству антипсихотика. DXA мерења су урађена 60. и 98. PN дана. Резултати нашег истраживања су показали редукцију BMD и BMC у третираним групама, а ове промене су биле израженије 98. PN дана.

Смањење BMD и посебно BMC, као прецизнијег индикатора за остеопорозу и фактора ризика за фрактуре костију (Riggs и сар. 1981), јасно указује на то да перинатална примена РСР-а код пацова има дугорочне ефекте на кости. Наши резултати су у складу са налазима код пацијената оболелих од шизофреније. Недавне мета-анализе су показале да је BMD значајно снижена код оболелих од шизофреније у односу на здраве контроле (Tseng и сар. 2015) и да оболели имају повећан ризик за настанак прелома (Stubbs и сар. 2015). Смањење BMD је показано и код пацијенткиња са првом епизодом шизофреније и минималним излагањем антипсихотика (Magic и сар. 2005). Налази смањене минералне коштане густине, смањења ширине кортикалне кости и броја међугредичних мостова уз губитак њихове синцицијалности код РСР перинатално третираних пацова у нашем истраживању, указују на то да комплексне промене које су основа за патофизиологију шизофреније, могу бити одговорне за уочене промене на костима. Познато је да је ремоделовање костију системски регулисано многим хормонима и локално путем цитокина, али недавно је претпостављена и регулација преко централног - бета адренергичког система (Bonnet и сар. 2008). Такође, указано је на улогу серотонина у модулацији утицаја симпатичког нервног система на скелет и на регулацију ремоделовања костију код експерименталних животиња (Kawai и сар. 2010). Бројни докази указују да серотонински систем има значајну улогу у патогенези шизофреније (Quednow и сар. 2009).

Ефекти антипсихотика на експерименталним животињама испитивани су у неколико студија (Costa и сар. 2011; Kunitatsu и сар. 2010). Међутим, према

нашем сазнању, само је у једној студији, која показује заштитне ефекте дуготрајног третмана атипичним антипсихотиком рисперидоном, коришћен анимални модел схизофреније (Petronijević и сар. 2013). Испитивање утицаја антипсихотика у нашем истраживању открило је разлике у ефектима халоперидола и клозапина на кости. Наиме, код здравих животиња (перинатално третираних NaCl-ом) показано је смањење BMD и BMC код мужјака пацова третираних халоперидолом док клозапин није изазвао промену ових параметара. Третман халоперидолом је у групи РСР перинатално третираних пацова (анимални модел схизофреније) повезан са даљим смањењем густине костију која је већ значајно смањена у РСР групи животиња које нису добијале антипсихотике. Патохистолошком анализом је такође потврђена значајна редукција површине коштаных гредица а уочен је и значајни губитак међугредичних мостова и синцицијалне структуре. Нарушена грађа кости је, пре свега, последица драстичног смањења површине гредица. Са друге стране, третман клозапином код пацова који су перинатално третиран РСР-ом, није узроковао даље погоршање BMD и BMC у поређењу са РСР перинатално третираним пацовима. Напротив, уочен је скроман протективни ефекат овог лека на кости животиња. Студија *Kunimatsu* и сар. (2010) је показала да хронични третман типичним антипсихотицима халоперидолом или хлорпромазином индукује губитак трабекуларне кости фемура код женки пацова. Дозе халоперидола примењене у студији ових аутора су биле 2 и 10 mg/kg/на дан, што знатно премашује дозе које се користе у лечењу пацијената оболелих од схизофреније. Са друге стране, *Costa* и сар. (2011) су демонстрирали, како употребом DXA тако и микрокомпјутеризованом томографијом, да 6 недеља третмана клозапином (10 mg/kg/на дан), али не и халоперидолом (0,25 mg/kg/на дан), смањује BMD код одраслих мужјака пацова. Аутори су сугерисали да овај ефекат може бити посредован директним дејством клозапина на смањење пролиферације и диференцијације остеобласта. Интересантно, наши резултати показују да терапија клозапином доводи до нормализације промена узрокованих перинаталном употребом РСР-а, и као што смо раније поменули, третман халоперидолом има штетнији ефекат на кости. Могућ разлог неслагања између налаза ових студија може бити у употреби различитих протокола, посебно дозе и трајања

антипсихотичног третмана. У студији коју је спровели *Costa* и сар. (2011), лекови су апликовани дневно у облику s.c. ињекција у току 42 дана, у мањим дозама у поређењу са нашим протоколом, што може имати утицај на метаболизам антипсихотика и ефекте лека. Такође, аутори нису анализирали утицај антипсихотика на анималном моделу схизофреније.

Повећање телесне тежине се често описује код оболелих од схизофреније као један од нежељених ефеката терапије антипсихотицима. Резултати нашег истраживања су показали да перинатална примена фенциклидина не утиче на телесну тежину пацова. Примена халоперидола је, међутим, праћена смањењем телесне тежине, али само у групи животиња перинатално третираних фенциклидином, док је примена клозапина праћена повећањем телесне тежине у групи која је перинатално примала NaCl. Примена антипсихотика, посебно клозапина, узроковала је прераспodelу масног ткива. У клиничким студијама, код људи је забележено значајно повећање телесне тежине изазвано атипичним антипсихотиком клозапином (*Taylor* и *Mc Askill*, 2000). Интересантно, резултати наше студије показују повећање телесне тежине код здравих животиња (перинатално третираних NaCl-ом) третираних клозапином, док је овај ефекат клозапина изостао код животиња перинатално третираних РСР-ом. На ефекте клозапина специфичне за пол указали су *Baptista* и сар. (1993) који су показали да различите дозе клозапина (од 0,5–20 mg) који се примењује интраперитонеално током три недеље утичу на телесну тежину само код мужјака пацова. С друге стране, *Ferno* и сар. (2015) су показали да депо ињекције оланзапина од 100-250 mg/kg код мужјака пацова доводе до губитка тежине, а не њеног повећања. Истраживање утицаја клозапина на телесну тежину код женки пацова (*Cooper* и сар., 2008), резултирало је налазом да клозапин не изазива повећање телесне тежине независно од дате дозе. У овом истраживању, аутори су спровели три сета експеримената где је доза клозапина прогресивно смањивана. У иницијалној прелиминарној студији женке Wistar пацова су третиране 21 дан интраперитонеално са 6 и 12 mg/kg клозапина 2 пута дневно. У другом делу истраживања женке Han Wistar пацова су третиране нижим дозама (1-4 mg/kg клозапина интраперитонеално 2 пута дневно), док су у трећем женке Han Wistar пацова третиране најнижим дозама (0,25-0,5 mg/kg клозапина интраперитонеално

2 пута дневно). Аутори не само да нису забележили повећање телесне тежине женки пацова, већ је уместо тога, клозапин довео до губитка тежине без промена у уносу хране и мишићној маси или променама нивоа глукозе, инсулина, лептина и пролактина. *Gressier и сар. (2016)* су спровели мета-анализу фармакогенетских студија о одговору клозапина и индукованом повећању телесне тежине. Аутори су анализирали да ли одговор на клозапин и повећање тежине зависе од истог специфичног генског полиморфизма код тестираних испитаника. Виђена је значајна повезаност полиморфизма серотонергичких гена и клиничког одговора на клозапин али без јасних налаза о утицају полиморфизма тестираних гена на повећање телесне тежине изазване клозапином.

Пацијенти оболели од шизофреније често имају неадекватан одговор НРА осовине на акутни стрес (*Albus и сар. 1982; Jansen и сар. 2000; Goldman и сар. 2007; Brenner и сар. 2009; van Venrooij и сар. 2012*). Обзиром да код пацијената оболелих од шизофреније постоји поремећај НРА осовине (*Bradley и Dinan, 2010*), који се повезује са настанком остеопорозе и да је хиперактивност НРА осовине генерално повезана са гојазношћу (*Pasquali и сар. 1993; Ohlson и сар. 1985; Incollingo Rodriguez и сар. 2015*), други део нашег истраживања се односио на испитивање дугорочног утицаја терапије антипсихотицима на концентрацију кортикостерона у серуму пацова и експресију GR рецептора у мозгу животиња. Глукокортикоидни рецептор је широко распрострањен рецептор који се такође може наћи у допаминергичким и допаминоцептивним круговима који посредују у испољавању психотичних симптома. Сензитизација на стрес и последичне промене у глукокортикоидном сигналном систему могу покренути каскаду догађаја који резултују поремећајем неуронских кругова доводећи на крају, уз садејство додатних генетских и фактора средине, до поремећаја допаминског система, (*Corsican и сар. 2003; Myin-Germeys и van Os, 2007; van Winkel и сар. 2008;*), односно до повећања активности допаминергичких путева је у мезолимбичком подручју оболелих које је карактеристично за шизофренију и сродне психотичне поремећаје (*van Winkel и сар. 2008*). Резултати наше студије су показали да перинатална примена фенциклидина нема дугорочне ефекте на базалну концентрацију кортикостерона у серуму, али значајно утиче на експресију GR, pGR и одговарајућих шаперона у мозгу, указујући на повећану

реактивност GR сигналног система у свим испитиваним структурама мозга експерименталних животиња, осим у хипокампусу где промене упућују на смањену осетљивост. У складу са нашим резултатима је студија *Amani* и сар. (2013) у којој је испитиван утицај постнаталне блокада NMDA рецептора на телесну тежину, ниво кортикостерона и понашање које одговара анксиозности или депресији код мужјака и женки мишева у одраслом добу. У ту сврху, мужјаци и женке NMRI мишева су 7, 9, и 11-ог, PN дана третирани NaCl-ом или PCP-ом (5 и 10 mg/kg, s.c.), а затим су у периоду од 60-65. PN дана били подвргнути различитим бихејвиоралним тестовима. Студија је показала да неонатални PCP третман није утицао на базални ниво кортикостерона ни код мужјака ни код женки NMRI мишева. Ови аутори су, такође, експериментално доказали да код животиња перинатално третираних PCP-ом у дози од 10 mg/kg излагање стресу, као што је форсирано пливање или повлачење репа, у одраслом добу повећава ниво кортикостерона, анксиозност и депресивно понашање код мужјака, док код женки смањује ниво анксиозности без значајног утицаја на депресију .

Поремећај НРА осовине, показан у нашој студији на анималном моделу схизофреније, у складу је са налазима код пацијената оболелих од ове болести (Bradley и Dinan, 2010). Међутим, налаз нормалне концентрације кортикостерона код пацова перинатално третираних PCP-ом у нашој студији се разликује од налаза повећане концентрације кортизола који се уочава код пацијената са првом епизодом болести који претходно нису лечени антипсихотицима (Bradley и Dinan, 2010). Запажено одступање могло би се довести у везу са чињеницом да су у свим студијама пацијенти оболели од схизофреније, вероватно имали одређени ниво психолошког стреса било због њихових психотичних симптома и/или због пријема у психијатријску болницу, те због тога није могуће закључити да ове студије пружају доказе о дисфункцији НРА осовине *per se*, с обзиром на то да повишени нивои кортизола могу бити резултат нормалног одговора НРА осовине на стрес. Осим тога, наши резултати повећане експресије GR и/или pGR и измењене експресије повезаних шаперона и протеина ко-шаперона у кортексу, таламусу и нуклеус каудатус указују на присуство повећане осетљивости GR сигналног система упркос нормалној концентрацији кортикостерона у серуму животиња перинатално третираних PCP-ом. Са друге стране, *post mortem* студије



указују на снижен ниво глукостероидне рецепторске iRNK у фронталном кортексу и хипокампусу у оболелих од схизофреније (Webster и сар., 2002). *Basta-Kaim* и сарадници (2011) у студији схизофреније индуковане липополисахаридима (LPS) показали су да бихејвиоралне промене праћене дисрегулацијом НРА осовине карактерише повишен базални ниво кортикостерона и код мужјака и код женки Wistar пацова, који је праћен смањеном експресијом GR у хипокампусу. У овој студији, LPS из *Escherichia coli* је апликован s.c. трудним женама Wistar пацова у дози од 1 mg/kg сваког другог дана почев од седмог дана трудноће. LPS је био растворен у NaCl-у и ињектован у запремини од 1,5 ml/kg. Контролну групу су чиниле трудне женке третиране на исти начин NaCl-ом. Интересантно, претретман LPS-ом није утицао на експресију GR у фронталном кортексу ни код мужјака ни код женки пацова. Овај налаз указује на то да је у актуелном LPS анималном моделу схизофреније, хиперактивност НРА осовине била повезана искључиво са променама у хипокампусу, али не и са кортикалним нивоом GR. Сматра се да су хипокампадни глукостероидни рецептори укључени у инхибиторни механизам повратне спреге и изгледа да смањење нивоа глукостероидног рецептора у овој структури имплицира хиперактивност НРА осовине. Аутори као могуће објашњење промењене активности НРА осовине наводе могућност да LPS стимулише ослобађање глукостероида и на тај начин смањује ниво глукостероидног рецептора, доводећи до хиперактивности НРА осовине. Резултати ове студије су делимично у сагласности са нашим истраживањем. Међутим, у нашој студији промене уочене у хипокампусу упућују на смањену осетљивост GR сигналног система обзиром да је показана смањена експресија GR и pGR услед перинаталне примене PCP-а.

Фосфорилација GR је веома важна за регулацију функције овог рецептора. Хумани GR могу бити фосфорилирани на остацима серина 211 (pGR- Ser211) и серина 226 (pGR- Ser226) различитим киназама као што су циклин-зависне киназе и митогеном-активирани протеин киназе (Krstic и сар. 1997; Miller и сар. 2005; Rogatsky и сар. 1998). Фосфорилација Ser211 (Ser232 код пацова) повећава транскрипциону способност GR и биомаркер је за активисани GR *in vivo*. Такође, показано је да ова фосфорилација GR промовише хормон зависну транслокацију GR у једру и значајно повећава транскрипциону активност (Wang и сар. 2002,

2007; Ismaili и Garabedian, 2004; Chen и сар. 2008). С друге стране, фосфорилација GR на Ser226 инхибира његову транскрипцију и утиче на враћање рецептора у цитоплазму након престанка секреције хормона (Itoh и сар. 2002; Ismaili и Garabedian, 2004; Wang и сар. 2007). Резултати наше студије указали су на структурно специфичне промене GR и pGR (Ser232) у мозгу одраслих пацова перинатално третираних РСР-ом. У кортексу је била повећана експресија и GR и pGR, у таламусу и нуклеус каудатусу је била повишена само експресија GR, док је у хипокампусу експресија обе форме рецептора била смањена.

Протеини топлотног шока, критични за увијање и регулацију широког спектра ћелијских протеина, препознају се као кључни фактори у неколико значајних догађаја у мозгу, укључујући раст неурита (Ishima и сар. 2012), неуронску диференцијацију (Loones и сар. 2000), поларизацију (Benitez и сар. 2014) и неуродегенерацију (Luo и сар. 2010). HSP70 олакшава увијање GR у конформацију која има низак афинитет за стероид, док HSP90 припада сложеној каскади молекуларних шаперона (хетерокомплекс) који катализује конформационе промене омогућавајући GR и другим стероидним рецепторима да пређу у једру (зрели комплекс), где врше своје геномске функције (Schmidt и сар. 2015). Показано је да је активност HSP90 неопходна у контроли експресије, активности и локализације специфичних киназа и моторних протеина током спецификације и процеса елонгације аксона (Benitez и сар., 2014). У нашој студији, једина промена HSP70 код РСР перинатално третираних пацова била је у кортексу где је забележена смањена експресија. Ово је супротно акутном дејству РСР-а или другог антагонисте NMDA рецептора дизоцилпина (МК-801) у одраслих пацова, за које је показано да повећавају експресију HSP70 (Hashimoto и сар. 1996; Hashimoto и сар. 1997). Такође, показано је да РСР значајно повећава ниво HSP70 iRNK у префронталном кортексу пацова (García-Osta и сар., 2003). Међутим, смањена експресија HSP70 у нашој студији указује на повећан афинитет рецептора за хормон и заједно са налазом повећане експресије GR и pGR у овој структури указује на повећану осетљивост GR система. Са друге стране, експресија HSP90, углавном није била промењена у испитиваним можданим структурама РСР перинатално третираних пацова у односу на контролне животиње. Код пацијената оболелих од схизофреније је уочена

повећана експресија HSP70 iRNK (Arion и сар., 2007) и HSP70 протеина (Schwartz и сар., 1999) у префронталном кортексу, као и повећана концентрација анти-HSP90 и анти-HSP70 антитела у серуму пацијената оболелих од схизофреније у односу на здраве контроле (Kim и сар., 2001). Имајући у виду улогу шаперона као неопходних молекула за поправку и уклањање хелијских протеина оштећених у стресу, дефекти у њиховој функцији узроковани имунолошким инсултима у феталном развићу могу бити укључени у неуроразвојни механизам развоја схизофреније.

Одлучујућу улогу у регулацији активности GR има FKBP51 који модулира осетљивост овог рецептора на кортизол (Binder, 2009). Протеин FKBP51 је имунофилин и припада породици интрацелуларних протеина који имају активност пептидил-пролил-цис/транс-изомеразе и који се везују за имуносупресивне лекове (Pratt и Toft 1997; Kang и сар., 2008). Имунофилин FKBP51 регулише одговор на стрес инхибирањем нуклеарне транслокације GR (Grad и Picard, 2007), што је у корелацији са слабом интеракцијом FKBP51 са динеином (Wochnik и сар., 2005). Повећана експресија FKBP51 доводи до измењеног одговора GR-а на кортизол и на тај начин узрокује поремећај регулације негативне повратне спреге HPA осе (Scammell и сар. 2001). Имунофилин FKBP51 је кодиран *fkbp5* геном и одређује афинитет везивања GR за глюкокортикоиде. Шаперон HSP90, p23 и FKBP51 стабилишу GR комплекс и постављају га у стање високог афинитета за хормон. Након везивања хормона долази до замене FKBP51 са FKBP52 што омогућава транслокацију кортизола везаног за GR у једро. Дугорочни ефекти перинаталног третмана РСР-ом на експресију FKBP51 у нашој студији су такође били структурно специфични. У кортексу и таламусу РСР перинатално третираних пацова експресија овог протеина није била промењена, док је у хипокампусу запажено смањење а у нуклеус каудатусу повећање експресије. Прошло је скоро 30 година од како су први FK506-везујући протеини, FKBP51 и FKBP52, идентификовани у комплексу са рецепторима стероидних хормона (Sanchez, 1990; Smith и сар., 1990). Данас је јасно показано да FKBP52 делује заједно са комплексима стероидни хормон-рецептор-шаперон у регулацији везивања хормона и игра кључну улогу у транслокацији рецептора у једро, а претпоставља се да регулише и рецепторе у

једру. Мада се FKBP51 генерално сматра негативним регулатором рецепторске функције, докази указују да постоји ткивна и/или ћелијска специфичност у рецепторској сигнализацији. Као резултат свега, и FKBP51 и FKBP52 су имплицирани у различитим болестима и могу служити као терапијски циљеви за лечење ових болести (Storer и сар., 2011).

Дакле, најизраженије промене у нашој студији су запажене у кортексу и хипокампусу, два региона која су, заједно са амигдалом, кључни региони мозга укључени у реакцију на стрес. Конзистентни налази у имиџинг студијама мозга оболелих од схизофреније су смањење волумена хипокампуса и амигдала (Gur и сар. 2007; Exner и сар. 2004; Wright и сар. 2000). Такође је показана и негативна корелација између волумена хипокампуса и базалне концентрације кортизола (Mondelli и сар. 2010) односно осетљивости на стрес (Collip и сар. 2013). У нашем истраживању експресија  $11\beta$ -HSD, ензима који учествује у метаболизму глукокортикоида и самим тим регулише унутарћелијске нивое стероида који су доступни за активирање кортикостероидног рецептора, је углавном била непромењена у мозгу животиња перинатално третираних РСР-ом.

Бројним студијама је показано је да примена антипсихотика утиче на базалну активност НРА осе (Walker и сар. 2008; Bradley и Dinan, 2010; Borges и сар. 2013). Резултати добијени *post mortem* у ткиву пацијената са схизофренијом који су дуготрајно лечени антипсихотикима показали су смањену експресију *i*RNK глукокортикоидног рецептора (Webster и сар. 2002). Показано је да акутни третман антипсихотичним лековима, нарочито атипичним, повећава концентрацију глукокортикоида у плазми код људи и експерименталних животиња (Chan и Holmes, 1978; Ryan и сар. 2004). Неколико радова је показало да дуготрајна примена антипсихотика узрокује смањење нивоа глукокортикоида у плазми пацова (Hung and Chan, 1981; Kahn и сар. 1993; Sweer и сар. 1990). Колико је нама познато, ово је прва студија у којој је испитиван ефекат антипсихотичних лекова на НРА осовину у РСР анималном моделу схизофреније. У нашој студији је показано да третман халоперидолом не изазива промене у концентрацији кортикостерона у серуму без обзира на перинатални третман животиња, али је примена халоперидола праћена смањеном сензитивношћу GR сигналног система у мозгу, која се манифестује смањењем експресије активног pGR, повећањем

експресије инхибиторног шаперона HSP70 и смањењем експресије стабилишућих шаперона HSP90 и FKBP51. Резултати наше студије такође показују да третман клозапином узрокује вишеструко повећање концентрације кортикостерона у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином у односу на контролу и у односу на РСР групу. Повећање концентрације кортикостерона у нашем истраживању, и поред промена GR, pGR и шаперона у мозгу које су сличне променама запаженим после третмана халоперидолом, указује на присуство поремећаја НРА осовине код пацова перинатално третираних фенциклидином који су примали клозапин.

Повећане концентрације кортизола у плазми су уочене у првој епизоди болести код оболелих од схизофреније који никада нису лечени антипсихотичним лековима, као и код пацијената на хроничној терапији антипсихотика (Bradley и Dinan, 2010). Показано је да и прва и друга генерација антипсихотика доводе до смањења концентрације кортизола у плазми али већи број студија указује да друга генерација антипсихотика смањује концентрацију кортизола у већој мери у односу на прву (Zhang и сар. 2005; Jakovljevic и сар. 2007; Popovic и сар. 2007). Студија спроведена на малом узорку здравих добровољаца (Cohrs и сар. 2006) је показала изостанак ефекта халоперидола на ниво кортизола, као и смањење нивоа кортизола након примене друге генерације антипсихотика као што су кветиапин и рисперидон. Претпоставља се да утицај друге генерације антипсихотика на ниво кортизола вероватно настаје због разлике у афинитету за D2 и 5-HT подтипове рецептора (Meltzer, 1989).

Третман халоперидолом у нашој студији доводи до структурно специфичних промена GR сигналног система у мозгу пацова. У свим испитиваним структурама мозга халоперидол доводи до повећања експресије GR и HSP70 и смањења експресије pGR и FKBP51 и у NaCl и у РСР перинатално третираним групама у поређењу са контролном и са РСР групом, осим у хипокампусу где су запажене сличне промене свих испитиваних протеина укључених у GR сигнални систем осим експресије GR која је у овој структури била смањена. Чини се да терапија халоперидолом резултира смањењем активације рецептора, с обзиром на то да доводи до смањења нивоа активног облика рецептора. Такође, повећање HSP70 смањује афинитет рецептора за

везивање хормона. Ови резултати говоре у прилог заштитног ефекта халоперидола у односу на промене НРА осовине. Истраживања су такође показала да РСР значајно повећава експресију iRNK за HSP70 у префронталном кортексу пацова као и да халоперидол потенцира ово повећање док га атипични антипсихотици спречавају (García-Osta и сар., 2003). Наиме, мужјаци Wistar пацова третирани су појединачном интраперитонеалном дозом антипсихотика и то: абапериδοном (2 mg/kg), клозапином (20 mg/kg), халоперидолом (2 mg/kg) или респеридоном (2 mg/kg) један сат пре администрације РСР-а (10 mg/kg интраперитонеално). Резултати ове студије показују да фармаколошки еквивалентне дозе абаперидона и клозапина значајно умањују базалну HSP70 iRNK експресију у префронталном кортексу и у стријатуму пацова, иако клозапин доводи до израженијих промена у поменутиим регионима. Са друге стране, халоперидол није довео до промена. Антагониста NMDA рецептора, РСР значајно је повећао ниво HSP70 iRNK у префронталном кортексу али не и у стријатуму. Дејство халоперидола у комбинацији са РСР-ом је довело до значајног повећања HSP70 iRNK у стријатуму, иако у мањој мери него у префронталном кортексу. Резултати нашег истраживања су такође показали повећање експресије HSP70 у испитиваним можданим структурама пацова, у групи животиња које су добијале халоперидол након претретмана фенциклидином, осим у нуклеус каудатусу где нису уочене промене. У студији Roh и сар. (2008) испитиван је утицај халоперидола и респеридона на експресију HSP70 индуковану са МК-801 у ћелијама C6 глиома пацова. Показано је да се експресија HSP70 индукована са МК-801 у ћелијама C6 глиома пацова значајно смањује са продужењем претретмана антипсихотичима. Ови резултати указали су да хронична примена антипсихотичних лекова као што су халоперидол и респеридон може инхибирати експресију HSP70, што указује на то да дејства антипсихотичних агенаса могу допринети смањењу неуропатолошких промена уочених у шизофренији. Резултати ове студије нису у сагласности са нашим резултатима где је уочено да халоперидол у свим испитиваним структурама мозга доводи до повећања експресије HSP70 и у NaCl и у РСР перинатално третираним групама у поређењу са контролном и са РСР групом и вероватно су последица различитог деловања на поједине ћелије CNS-а. Међутим, посматрани заједно, ови резултати указују на то

да HSP70 и NMDA рецептори могу имати значајну улогу у механизму дејства антипсихотичних лекова и да могу пружити фундаменталне податке у расветљавању патофизиолошког механизма схизофреније. Занимљиво је напоменути и да током трудноће, производња и деловање протеина топлотног шока код мајке и фетуса могу бити смањени услед оштећења имунског система у условима стреса у трудноћи што такође може бити повезано са неуроразвојном хипотезом схизофреније (Bates и сар., 1996).

У нашој студији је показано да третман клозапином узрокује вишеструко повећање концентрације кортикостерона у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином у односу на контролу и у односу на РСР групу. Повећање телесне тежине и ретроперитонеалног масног ткива код мужјака пацова третираних клозапином, виђено у нашој студији, могло би се довести у везу са повећаном концентрацијом кортикостерона у серуму. Међутим, повећање кортикостерона је виђено само у РСР-С групи, док су промене телесне тежине и ретроперитонеалног масног ткива забележене у обе групе третиране клозапином, без обзира на перинатални третман (NaCl-С и РСР-С група). Овај резултат сугерише да повећање кортикостерона узроковано клозапином не може бити једини одговоран фактор који утиче на повећање телесне тежине и ретроперитонеалног масног ткива. Повећање концентрације кортикостерона у нашем истраживању, и поред промена GR, pGR и шаперона у мозгу које су сличне променама запаженим после третмана халоперидолом, указује на присуство поремећаја НРА осовине код пацова перинатално третираних фенциклидином који су примали клозапин. Наши резултати су у складу са студијом *Assie* и сар., (2008) који су такође пронашли повећану концентрацију кортикостерона услед дејства клозапина. У нашој студији, третман клозапином смањује активност рецептора у испитиваним структурама мозга, узрокујући смањену експресију GR, pGR и FKBP51, а истовремено повећава експресију HSP70. У већ споменутој студији *Basta-Kaim* и сарадника (2011) је показано да лекови хлорпромазин и клозапин апликовани интраперитонеално у дози од 10 mg/kg у запремини од 2 ml/kg током 21 дана, почев од 95. постнаталног дана, доводе до реверзибилности промена у понашању и биохемијских промена у овом моделу болести. Резултати су показали да је концентрација FKBP51 смањена у

фронталном кортексу и код мужјака и код женки пацова пренатално третираних LPS-ом што даље сугерише да је функција глукокортикоида у овој можданој структури побољшана. Као што смо већ поменули, аутори ове студије су показали да бихејвиоралне промене праћене дисрегулацијом НРА осовине карактерише повишен базални ниво кортикостерона и код мужјака и код женки Wistar пацова, који је праћен смањеном експресијом GR у хипокампусу. Хронични третман клозапином и у мањој мери хлорпромазином је довео до реверзије бихејвиоралних и биохемијских промена. Повећање експресије FKBP51 показано у овом раду после администрације клозапина и хлорпромазина пацовима пренатално третираним LPS-ом, такође сугерише да ови лекови могу инхибирати функцију глукокортикоидног рецептора, барем у фронталном кортексу. Требало би поменути да и хронични третман антидепресивима повећава ниво FKBP51 у фронталном кортексу, али не у хипокампусу (Szymańska и сар., 2009a,b). Дакле, FKBP51 изгледа као занимљив циљ и за антидепресиве и антипсихотике. Повећање експресије FKBP51 показано студији *Basta-Kaim* и сарадника (2011) после администрације клозапина није у складу са нашим резултатима обзиром да је третман клозапином довео до смањења експресије FKBP51 у испитиваним можданим структурама пацова. Могуће је да су уочене разлике резултат различитих протокола као и примењене дозе антипсихотика.

*Sinclair* и сар., (2013) показали су по први пут промене у регулацији транскрипције FKBP5 у мозгу у оболелих од схизофреније. Наиме, они су *post mortem* анализом у префронталном кортексу идентификовали повећану експресију FKBP5 iRNK пацијената оболелих од SCH у односу на контролну групу. Познато је да FKBP51 заједно са HSP90 и p23 стабилизује GR комплекс у високо афинитетном стању (Sinclair и сар. 2013) и регулише реакцију на стрес инхибирањем нуклеарне транслокације GR (Grad и Picard, 2007). У вези с поменутих налазима, у недавној прегледној студији, предложена је улога FKBP5 гена у вулнерабилност-стрес моделу схизофреније повезана са ген-стрес интеракцијом (Daskalakis и Binder, 2015). У првој студији која је анализирала хаплотип FKBP5 код пацијената оболелих од схизофреније и њихових здравих рођака (браћа и сестре) у поређењу са контролама (Mihaljevic и сар., 2016) показано је постојање ризичних алела и "ризик" комбинација хаплотипа у



схизофренији, посебно када је траума из детињства присутна као доприносиоћи фактор. Интересантно, истраживање *Hartmann* и сар. (2012) показало је да су FKBP5 *knockout* мишеви (51КО) имали значајно ниже базалне концентрације кортикостерона у поређењу са *wild-type* животињама (WT) у условима хроничног стреса. Њихови неуроендокрини налази указују на израженију негативну повратну спрегу у оквиру НРА осе 51КО мишева и сходно томе нижу осетљивост на стрес овог параметра, што је вероватно последица повећане GR осетљивости. Такође, *Hoeijmakers* и сар. (2014) су истраживали неуроендокрине, физиолошке и промене у понашању у вези са поремећајима расположења код 51КО женки мишева. Њихови резултати су у складу са студијом *Hartmann* и сар. (2012). Све у свему, женке 51КО мишева нису показале ниједан истакнути фенотип понашања под базалним условима, већ су показале смањену базалну активност НРА осовине, заравњен одговор и убрзани опоравак од акутног стреса. Ове карактеристике снажно се преклапају са претходним испитивањима код мужјака 51КО мишева што указује на то да FKBP51 обликује понашање и неуроендокрински фенотип независно од пола појединца.

Најконзистентнији налаз у нашем истраживању је смањена експресија FKBP51 у мозгу пацова изазвана третманом халоперидолом и клозапином. Третман халоперидолом довео је до смањења експресије FKBP51 у свим испитиваним структурама мозга без обзира на перинатални третман пацова, као и до смањења концентрације кортикостерона у серуму пацова у РСР-С групи. Иако је третман клозапином проузроковао сличне промене GR рецептора као халоперидол, ниво кортикостерона се значајно повећао након третмана клозапином. Прва мета-анализа у којој је поређена реактивност кортизола на стрес у психијатријским поремећајима показала је да је у схизофренији реакција кортизола на психосоцијални стрес заравњена и код мушкараца и код жена али да је ограничавајући фактор за доношење чврстих закључака величина узорка. Реактивност кортизола на стрес боље одражава и пружа боље сагледавање психопатолошких процеса од базалних нивоа кортизола (*Zorn* и сар. 2017). Сматра се да је базални кортизол мера лучења кортизола у стању без стреса или у мировању и да његова вредност указује на хипер-, хипо- или нормалну секрецију кортизола у базалним условима. Даље, психолошки стрес утиче на секрецију

кортизола и из тог разлога би било адекватно поређење базалног кортизола између пацијената и контрола, што би захтевало да обе групе буду изложене сличним нивоима психолошког стреса. У пракси то је веома тешко постићи из више разлога. Пацијенти оболели од схизофреније су изложени широком спектру психолошких стресора; неки истински стресори које доживљава становништво у целини, али и други који се могу назвати "псеудостресори" (Dinan, 2004).

Обзиром да је настанак хиперпролактинемije један од најзначајнијих механизма којима антипсихотици узрокују остеопорозу, испитивали смо концентрацију пролактина у серуму експерименталних животиња. Резултати нашег истраживања показали су да на концентрацију пролактина у серуму не утичу ни фенциклидин ни третман антипсихотикима, што указује да промена концентрације пролактина није одговорна за уочене промене на костима. Као што смо већ поменули, према ефекту који имају на пролактин, антипсихотици се могу класификовати у две групе: PS и PR антипсихотике (Bulut и сар. 2014). Студија пресека, која је обухватила 195 пацијената оболелих од SCH, је показала позитивне ефекте PS антипсихотика на кости и код мушкараца и код жена (Lin и сар. 2015). Такође, студија *Takahashi* и сар. (2013) је утврдила значајну повезаност употребе PR антипсихотика и фрактура кука код оба пола. *Lin* и сар. (2012) су показали дозно-зависни протективни ефекат клозапина на густину костију код жена са хроничном схизофренијом. Међутим, иако је преваленца хиперпролактинемije била чешћа код жена које су узимале PR антипсихотике (Kinon и сар. 2003; Bushe и сар. 2008; Kinon и сар. 2013), мета-анализа урађена од стране *Stubbs* и сар. (2014), која је обухватила деветнаест студија и 3,038 SCH пацијената, указала је да су мушкарци подложнији остеопорози и остеопенији него жене. Даље, студија пресека која је пратила 45 мушкараца оболелих од SCH који су примали антипсихотичну монотерапију (рисперидон, оланзапин или клозапин) током више од 20 година (Lee и сар. 2010) је показала да промена BMD ових пацијената није била повезана са нивоима полних хормона или нивоом пролактина, што је у складу са нашим резултатима. Такође, ови аутори су сугерисали да би патофизиологија смањене BMD код мушкараца оболелих од схизофреније могла бити различита од патофизиологије код жена оболелих од ове болести и да би могла бити повезана са утицајем негативних симптома

схизофреније на BMD. Негативни симптоми могу довести до поремећаја исхране и последичног смањења уноса калцијума, смањене изложености сунчевој светлости и изостанка физичке активности, што све може бити узрок повећаног ризика за настанак остеопорозе код ових пацијента.

Током последњих неколико деценија, све већи број студија указује на повезаност хиперактивације НРА осовине и имунског система код пацијената са психозом. Међутим, остаје нејасно да ли и како антипсихотици утичу на НРА осовину и имунски систем, и да ли је заиста ефекат антипсихотика на мозак делимично посредован модулацијом ових биолошких система. Обзиром да је веза између схизофреније и измењеног имунског одговора и даље предмет расправе, желели смо да у нашем истраживању испитамо утицај перинаталне примене фенциклидина и деветонедељног третмана антипсихотицима на концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$  у серуму пацова. Студије су показале да су аутоимунски поремећаји и инфекције повезани са повећаним ризиком од развоја схизофреније (Eaton и сар., 2006; Venros и сар., 2011). Систематично поређење преваленце 29 аутоимунских поремећаја за све пацијенте у Данској којима је дијагностификована схизофренија између 1981. и 1998. године и њихових родитеља у односу на групу здравих испитаника и њихових родитеља, показало је да се пет аутоимунских поремећаја чешће појављује код пацијената са схизофренијом, пре појаве симптома болести, као и код њихових родитеља: тиреотоксикоза, интестинална малапсорпција, стечена хемолитичка анемија, интерстицијални циститис и Сјогренов синдром (Eaton и сар., 2006). Кохортна студија Venros и сар. (2011) је показала да су аутоимунске болести и број инфекција у којима је потребна хоспитализација фактори ризика за настанак схизофреније а овај повећани ризик је компатибилан са имунолошком хипотезом у подгрупама болесника са схизофренијом.

Међутим, мерењем нивоа проинфламаторних цитокина добијени су различити резултати. Повишени нивои проинфламаторних цитокина су показани код пацијената са високим ризиком и у првој епизоди психозе (Noto и сар., 2015; Stojanović и сар., 2014), као и током егзацербације симптома и стабилних фаза хроничне болести (Miller и сар., 2011; Potvin и сар., 2008). Dunjić и сар. (2013) су показали повећан ниво IL-6 и смањен ниво TNF- $\alpha$  код пацијената оболелих од схизофреније и у фази егзацербације и фази ремисије у поређењу са здравим

контролама, као и одсуство значајне корелације између нивоа цитокина и пола, старости, индекса телесне тежине, пушачких навика, антипсихотичних лекова, трајања лечења и болести. Мерења нивоа iRNK за IL-6 из свеже екстрахованих моноклеарних ћелија периферне крви (PBMC) код здравих контрола и испитаника са шизофренијом показало је да периферни ниво PBMC IL-6 iRNK, у одсуству било које друге информације указује на вероватну дијагнозу шизофреније и да би могао бити корисан као лако приступачан биомаркер за дијагнозу ове болести (Chase и сар., 2016). Испитивања геномских асоцијација су идентификовала гене имуног система као водеће гене који се могу довести у везу са шизофренијом (Stefansson и сар., 2009; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014; Andreassen и сар., 2015; Network and Pathway Analysis Subgroup of the Psychiatric Genomics Consortium, 2015). *Chiappelli* и сар. (2016) су указали на дисфункцију у хомеостатским интеракцијама између глукокортикоида и имунских путева. Наиме, узорци пљувачке 34 особе са шизофренијом (20 мушкараца, 14 жена) и 40 здравих контрола (20 мушкараца, 20 жена) су сакупљани пре и у 3 временска интервала након завршетка компјутеризованог психолошког изазова који би требало да изазове фрустрацију. Испитане су концентрације кортизола и IL-6 у пљувачки и њихов одговор на изазов стресор. Примењена стрес парадигма индуковала је пораст и кортизола и IL-6 код SCH пацијената, док је код здравих контрола уочен бољи акутни одговор кортизола повезан са стрмим падом нивоа IL-6 након стреса, што одговара очекиваном антиинфламаторном ефекту кортизола. Супротан однос који је уочен код пацијената указао је на немогућност нисходне регулације инфламаторног одговора на психолошки стрес у шизофренији, или чак на парадоксално повећање IL-6 одговора. Овај налаз може делимично да укаже на абнормалности у запаљенским и стресним путевима раније пронађеним у болести, имплицирајући поремећен одговор на стрес у хроничном инфламаторном стању у шизофренији. Наши резултати су показали да перинатална примена фенциклидина узрокује значајно смањење концентрације IL-6 док на концентрацију TNF- $\alpha$  у серуму нема утицај. Примена халоперидола није праћена променама концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$  ни код животиња перинатално третираних NaCl-ом ни фенциклидином у поређењу са контролним групама, док третман клозапином проузрокује значајно

повећање TNF- $\alpha$  у односу на контролну групу, без обзира на перинатални третман. У складу са нашим резултатима је истраживање *Handley* и сар. (2016) које је показало да халоперидол, али не и арипипразол, смањује концентрације кортизола и IL-6 у току неколико сати од примене лека. У студији *O'Connell* и сар. (2014) повећани нивои проинфламаторних цитокина и ВМІ су пронађени код жена али не и код мушкараца пацијената који су третирани клозапином у поређењу са здравим контролним групама. Аутори су сугерисали да удруживање повећаног броја адипоцита може допринети повећању концентрације цитокина у серума код жена. *Fonseka* и сар. (2016) су предложили да антипсихотици са високом склоношћу за повећање телесне масе, као што су клозапин и оланзапин, утичу на експресију имуних гена и индукују промене нивоа цитокина у серуму како би на крају нисходно регулисали неуроинфламацију. Инфламаторни цитокини су обично укључени у анорексигеничке реакције, а смањене упале су показале да посредују у променама у исхрани и осталим метаболичким параметрима, што доводи до гојазности. Студија на пацовима (Ng и сар., 2014), међутим, је показала да клозапин индукује имунски одговор са повећањем инфламаторних цитокина као што је IL-6 због његове оксидације у реактивном јону нитрогена који се ковалентно везује за неутрофиле доводећи до повећања инфламаторних цитокина.

Обзиром да се у схизофренији описују метаболичке промене (Reid, 2008), али да је механизам којим антипсихотици доводе до поремећаја метаболизма још увек недовољно познат, желели смо да испитамо утицај антипсихотика на концентрације глукозе, холестерола и триацилглицерола у серуму пацова у нашем моделу схизофреније. Резултати наше студије су показали да перинатална примена фенциклидина узрокује статистички значајно смањење концентрације глукозе и повећање концентрације холестерола у серуму. Примена халоперидола и клозапина не утиче на концентрацију глукозе у серуму, али оба антипсихотика узрокују значајно повећање концентрације холестерола и смањење концентрације триацилглицерола без обзира на перинатални третман. Иако су примећене значајне разлике, све измерене вредности испитиваних метаболичких параметара су у оквиру референтних вредности за ову врсту лабораторијских животиња. Истраживање *von Wilmsdorff* и сар. (2014) показало је метаболичке промене везане за пол које су се такође манифестовале у јетри пацова након 12-недељног

излагања халоперидолу или клозапину. Сматра се да је стрес ендоплазматског ретикулума изазван примењеним лековима преко промене хомеостазе  $\text{Ca}^{2+}$  одговоран за примењене промене. Резултати нашег истраживања су у сагласности са резултатима студије *Cooper* и сар. (2008) који су третирали женке Wistar пацова 21 дан интраперитонеално (и.п.) са 6 и 12 mg/kg клозапина 2 пута дневно, док су две групе женки Han Wistar пацова третирали нижим дозама, (1-4 mg/kg клозапина и.п. 2 пута дневно) и (0,25 и 0,5 mg/kg клозапина и.п. 2 пута дневно), који такође нису уочили промене у нивоу серумске глукозе након примене клозапина. Показано је да је преваленција дијабетеса код пацијената који болују од шизофреније скоро 1,5 до 2 пута већа у односу на општу популацију (*Cooper* и сар., 2008). Новонастали дијабетес се углавном јавља током првих 6 месеци терапије, док се ризик од хипергликемије одржава дуже време и ова хипергликемија може бити озбиљна. Појава дијабетичне кетоацидозе, иако ретка, уочена је код примене многих антипсихотика и може бити прва клиничка манифестација антипсихотицима индукованог дијабетеса тип II или чак почетне форме дијабетеса тип I (*Ballon* и сар., 2014). Клозапин и оланзапин имају највећу тенденцију да поремете хомеостазу глукозе у поређењу са осталим антипсихотицима (*Volpato* и сар., 2013). *Tarricone* и сар. (2006) су у студији пресека показали да су све групе испитаника третиране атипичним антипсихотицима имале лошији метаболички профил, конкретно вишу гликемију и триглицеридемију, у односу на контролну групу. Поред утицаја на метаболизам глукозе, антипсихотици доводе и до поремећаја липидног статуса. Различите претклиничке и клиничке студије показале су да су код животиња и пацијената третираних клозапином и халоперидолом, гојазност и повишене концентрације холестерола и триацилглицерола повезане са променама у експресији гена укључених у липогенезу (*Kristiana* и сар., 2010; *Laouressergues* и сар., 2010), као и са поремећајем хормона који су одговорни за метаболизам масти (*von Wilmsdorff* и сар., 2014; *Watanabe* и сар., 2012). *von Wilmsdorff* и сар. (2014), су показали пораст LDL холестерола у групи третираној клозапином и пад нивоа LDL у групи третираној халоперидолом. Овакав налаз је у сагласности са налазима других студија које говоре у прилог повећаног ризика од настанка липидних абнормалности код терапије клозапином.

У овој студији је било неколико ограничења. Антипсихотици су коришћени у једној дози и примењивани су орално. Иако то може симулирати ситуацију код пацијената са шизофренијом који често неправилно узимају лекове, потребне су студије дужег трајања, примена различитих доза и начина апликације антипсихотика. Поред тога, будућа истраживања треба усмерити на молекуларни механизам дејства антипсихотика, укључујући мерење RANK (рецепторски активатор нуклеарног фактора капа-Б (NF-κB))/RANK лиганда и молекула остеопротегерина.

Наши резултати указују да је вероватно сама болест одговорна за настанак промена на костима које се запажају код оболелих од шизофреније а да дуготрајна примена халоперидола доводи до погоршања, док је примена клозапина протективна. Такође, запажене промене на костима нису резултат поремећаја НРА осовине, као ни последица промене концентрације пролактина ни интерлеукина. Неопходна су даља истраживања у којима би се испитао директан утицај антипсихотика на коштану ткиво. С обзиром да је дуготрајна терапија антипсихотицима неопходна у лечењу оболелих од шизофреније, адекватно сагледавање њихових нежељених дејстава од изузетног је значаја за правилан терапијски приступ. Разумевање комплексности структуре глукокортикоидног рецептора, расветљавање процеса активације и преноса сигнала преко GR као и евалуација потенцијалних маркера за индивидуални ризик за настанак нежељених дејстава антипсихотика може допринети развоју нових терапијских мета и побољшању клиничког исхода оболелих.

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Перинатална примена фенциклидина утиче на смањење чврстине костију код одраслих пацова које се манифестује смањењем BMD, BMC и променама у микроархитектури коштаног ткива.
2. Дуготрајна примена халоперидола доводи до погоршања промена на костима узрокованих перинаталном применом фенциклидина, док је примена клозапина протективна.
3. Перинатална примена фенциклидина не утиче на телесну тежину пацова. Примена халоперидола је, међутим, праћена смањењем телесне тежине, али само у групи животиња перинатално третираних фенциклидином, док је примена клозапина праћена повећањем телесне тежине у групи која је перинатално примала NaCl. Примена антипсихотика, посебно клозапина, узроковала је прерасподелу масног ткива.
4. Перинатална примена фенциклидина нема дугорочне ефекте на базалну концентрацију кортикостерона у серуму, али значајно утиче на експресију GR, pGR и одговарајућих шаперона у мозгу указујући на повећану осетљивост GR сигналног система у свим испитиваним структурама мозга експерименталних животиња, осим у хипокампусу где промене упућују на смањену осетљивост.
5. Халоперидол не изазива промене у концентрацији кортикостерона у серуму без обзира на перинатални третман животиња, али је примена халоперидола праћена смањењем сензитивношћу GR сигналног система у мозгу, која се манифестује смањењем експресије активног pGR, повећањем експресије инхибиторног шаперона HSP70 и смањењем експресије стабилишућих шаперона HSP90 и FKBP51.



6. Третман клозапином узрокује вишеструко повећање концентрације кортикостерона у серуму пацова перинатално третираних фенциклидином у односу на контролу и у односу на РСР групу. Ово повећање, и поред промена GR, pGR и шаперона у мозгу које су сличне променама запаженим после третмана халоперидолом, указује на присуство поремећаја НРА осовине код пацова перинатално третираних фенциклидином који су примали клозапин.
7. На концентрацију пролактина у серуму пацова не утичу ни фенциклидин ни третман антипсихотицима, што указује да промена концентрације пролактина није одговорна за уочене промене на костима.
8. Перинатална примена фенциклидина узрокује значајно смањење концентрације IL-6 док на концентрацију TNF- $\alpha$  у серуму нема утицај. Примена халоперидола није праћена променама концентрације IL-6 и TNF- $\alpha$  ни код животиња перинатално третираних NaCl-ом ни фенциклидином у поређењу са контролним групама, док третман клозапином проузрокује значајно повећање TNF- $\alpha$  у односу на контролну групу, без обзира на перинатални третман.
9. Перинатална примена фенциклидина узрокује статистички значајно смањење концентрације глукозе и повећање концентрације холестерола у серуму. Примена халоперидола и клозапина не утиче на концентрацију глукозе у серуму, али оба антипсихотика узрокују значајно повећање концентрације холестерола и смањење концентрације триацилглицерола без обзира на перинатални третман. Иако су примећене значајне разлике, све измерене вредности испитиваних метаболичких параметара су у оквиру референтних вредности за ову врсту лабораторијских животиња.

10. Наши резултати указују да је вероватно сама болест одговорна за настанак промена на костима које се запажају код оболелих од шизофреније а да дуготрајна примена халоперидола доводи до погоршања, док је примена клозапина протективна. Такође, запажене промене на костима нису резултат поремећаја НРА осовине, као ни последица промене концентрације пролактина ни интерлеукина. Неопходна су даља истраживања у којима би се испитао директан утицај антипсихотика на коштану ткиво.
  
11. С обзиром да је дуготрајна терапија антипсихотицима неопходна у лечењу оболелих од шизофреније, адекватно сагледавање њихових нежељених дејстава од изузетног је значаја за правилан терапијски приступ. Разумевање комплексности структуре глукокортикоидног рецептора, расветљавање процеса активације и преноса сигнала преко GR као и евалуација потенцијалних маркера за индивидуални ризик за настанак нежељених дејстава антипсихотика може допринети развоју нових терапијских мета и побољшању клиничког исхода оболелих.

## 7. ЛИТЕРАТУРА

- 1) Abi-Dargham, A., Rodenhiser, J., Printz, D., Zea-Ponce, Y., Gil, R., Kegeles, L.S., Weiss, R., Cooper, T.B., Mann, J.J., Van Heertum, R.L., Gorman, J.M., Laruelle, M., 2000. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 8104-9.
- 2) Addington, J, Heinssen, R., 2012. Prediction and prevention of psychosis in youth at clinical high risk. *Annu Rev Clin Psychol* 8, 269-89.
- 3) Akiyama, K., 1999. Serum levels of soluble IL-2 receptor alpha IL-6 and IL-1 receptor antagonist in schizophrenia before and during neuroleptic administration. *Schizophr Res* 37, 97-106.
- 4) Albus, M., Ackenheil, M., Engel, R.R., Müller, F., 1982. Situational reactivity of autonomic functions in schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 6, 361-370.
- 5) Allardyce, J., Boydell, J., 2006. Review: the wider social environment and schizophrenia. *Schizophr Bull* 32, 592-98; published online July 18, 2006.
- 6) Alvir, J., Lieberman, J., Safferman, A., Schwimmer, J., Schaaf, J., 1993. Clozapine-induced agranulocytosis. *N. Engl. J. Med.* 329, 162-167.
- 7) Amani, M., Samadi, H., Doosti, M.H., Azarfarin, M., Bakhtiari, A., Majidi-Zolbanin, N., et al., 2013. Neonatal NMDA receptor blockade alters anxiety- and depression-related behaviours in a sex-dependent manner in mice. *Neuropharmacology*.73, 87-97.
- 8) Andersen, J.D., Pouzet, B., 2004. Spatial memory deficits induced by perinatal treatment of rats with PCP and reversal effect of D-serine. *Neuropsychopharmacology*. 29, 1080-90.
- 9) Andreasen, N., Nasrallah, H.A., Dunn, V., Olson, S.C., Grove, W.M., Ehrhardt, J.C., et al., 1986. Structural abnormalities in the frontal system in schizophrenia. A magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 43, 136-144.
- 10) Andreassen, O.A., Harbo, H.F., Wang, Y., Thompson, W.K., Schork, A.J., Mattingsdal, M., Zuber, V., Bettella, F., Ripke, S., Kelsoe, JR., Kendler, KS., O'Donovan, M.C., Sklar, P., 2015. The Psychiatric Genomics Consortium (PGC) Bipolar Disorder and Schizophrenia Work Groups; The International Multiple

Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC); McEvoy, L.K., Desikan, R.S., Lie, B.A., Djurovic, S., Dale, A.M., The Psychiatric Genomics Consortium PGC Bipolar Disorder and Schizophrenia Work Groups; The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium IMSGC. Genetic pleiotropy between multiple sclerosis and schizophrenia but not bipolar disorder: differential involvement of immune-related gene loci. *Mol Psychiatry* 20:207–14.

- 11) Angrist, B., Peselow, E., Rubenstein, M., Corwin. J., Rotrosen. J., 1982. Partial improvement in negative schizophrenic symptoms after amphetamine. *Psychopharmacol* 78, 128-130.
- 12) Arion, D., Unger, T., Lewis, D. A., Levitt, P. Mirnics, K., 2007. Molecular Evidence for Increased Expression of Genes Related to Immune and Chaperone Function in the Prefrontal Cortex in Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 62, 711–721.
- 13) Armanini, M., Hutchins, C., Stein, B., et al., 1990. Glucocorticoid endangerment of hippocampal neurons is NMDA-receptor dependent. *Brain Res* 532, 7-12.
- 14) Azuma, K., Adachi, Y., Hayashi, H., Kubo, K.Y., 2015. Chronic Psychological Stress as a Risk Factor of Osteoporosis. *J UOEH*. Dec 1; 37(4), 245-53.
- 15) Ballon, J., Pajvani, U., Freyberg, Z., Leibel, R., Lieberman, J., 2014. Molecular pathophysiology of metabolic effects of antipsychotic medications. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 25(11), 593-600.
- 16) Baptista, T., Mata, A., Teneud, L., De Quijada, M., Han, H.-W., Hernandez, L., 1993. Effects of long term administration of clozapine on body weight and food intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 45, 51-4.
- 17) Basta-Kaim, A. , Budziszewska, B., Leśkiewicz, M., Fijał, K., Regulska, M., Kubera, M., Wędzony, K., Lasoń, W., 2011. Hyperactivity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in lipopolysaccharide-induced neurodevelopmental model of schizophrenia in rats: effects of antipsychotic drugs. *Eur J Pharmacol*. Jan 15;650(2-3), 586-95.
- 18) Bates, P.R., Hawkins, A., Mahadik, S.P., McGrath, J.J., 1996. Heat stress lipids and schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 55, 101-7.
- 19) Beninger, R.J., Jhamandas, A., Aujla, H., Xue, L., Dagnone, R.V., Boegman, R.J., et al., 2002. Neonatal exposure to the glutamate receptor antagonist MK-801:

- effects on locomotor activity and pre-pulse inhibition before and after sexual maturity in rats. *Neurotox Res* 4, 477-88.
- 20) Benitez, M.J., Sanchez-Ponce, D., Garrido, J.J., Wandosell, F., 2014. Hsp90 activity is necessary to acquire a proper neuronal polarization. *Biochem. Biophys. Acta* 1843, 245e252.
  - 21) Benros, M.E., Eaton, W.W., Mortensen, P.B., 2014. The epidemiologic evidence linking autoimmune diseases and psychosis. *Biol Psychiatry* 75, 300-06.
  - 22) Benros, M.E., Nielsen, P.R., Nordentoft, M., Eaton, W.W., Dalton, S.O., Mortensen, P.B., 2011. Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study. *Am J Psychiatry* 168, 1303-10.
  - 23) Bernabei, R., Martone, A.M., Ortolani, E., Landi, F., Marzetti, E., 2014. Screening, diagnosis and treatment of osteoporosis: a brief review. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 11(3),201-7.
  - 24) Bey, T., Patel, A., 2007. Phencyclidine intoxication and adverse effects: a clinical and pharmacological review of an illicit drug. *Cal J Emerg Med.* VIII, 9-15.
  - 25) Bezchlibnyk-Butler, K.Z., Jeffries, J.J., 1999. *Clinical Handbook of Psychotropic Drugs.* Hogrefe & Huber Publishers, Toronto.
  - 26) Binder, E.B., 2009. The role of FKBP5, a co-chaperone of the glucocorticoid receptor in the pathogenesis and therapy of affective and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology* 34, 186–195.
  - 27) Bogerts, B., 1999. The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 4, 2-11.
  - 28) Bonnet, N., Pierroz, D.D., Ferrari, S.L., 2008. Adrenergic control of bone remodeling and its implications for the treatment of osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 8, 94-104.
  - 29) Borges, S., Gayer-Anderson, C., Mondelli, V., 2013. A systematic review of the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in first episode psychosis. *Psychoneuroendocrinology.* 38, 603–611.
  - 30) Bradley, A.J., Dinan, T.G., 2010. A systematic review of hypothalamic-pituitary adrenal axis function in schizophrenia: implications for mortality. *J Psychopharmacol* 24, 91-118.

- 31) Braff, D.L., Geyer, M.A., 1990. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. *Arch Gen Psychiatry* 47, 181-8.
- 32) Brenner, K., Liu, A., Laplante, D.P., Lupien, S., Pruessner, J.C., Ciampi, A., et al., 2009. Cortisol response to a psychosocial stressor in schizophrenia: Blunted, delayed, or normal? *Psychoneuroendocrinology*. 34 ,859-868.
- 33) Bresnahan, M., Schaefer, C.A., Brown, A.S., Susser, E.S., 2005. Prenatal determinants of schizophrenia: what we have learned thus far? *Epidemiol. Psychiatr. Soc.* 14, 194-197.
- 34) Brown, A.S., 2006. Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr Bull* 32, 200-02.
- 35) Brown, A.S., 2011. The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog Neurobiol* 93, 23-58.
- 36) Brown, A.S., 2012. Epidemiologic studies of exposure to prenatal infection and risk of schizophrenia and autism. *Dev Neurobiol* 72, 1272-76.
- 37) Brown, A.S., Susser, E.S., 2008. Prenatal nutritional deficiency and risk of adult schizophrenia. *Schizophr Bull* 34, 1054-63.
- 38) Buchmann AF, Holz N, Boecker R, et al. Moderating role of FKBP5 genotype in the impact of childhood adversity on cortisol stress response during adulthood. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2014;24:837–845.
- 39) Bulut, S.D., Bulut, S., Tüzer, V., Ak, M., Ak, E., Kis,a C., et al., 2014. The effects of Prolactin-raising and Prolactin-sparing antipsychotics on Prolactin levels and bone mineral density in schizophrenic patients. *Ar chives of. Neuropsychiatry* 51, 205-10.
- 40) Bushe, C., Shaw, M., Peveler, R.C., 2008. A review of the association between antipsychotic use and hyperprolactinaemia. *J Psychopharmacol.*22(2), 46-55.
- 41) Byrne, M., Agerbo, E., Eaton, W.W., Mortensen, P.B., 2004. Parental socio-economic status and risk of first admission with schizophrenia-a Danish national register based study. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 39, 87-96.
- 42) Cannon, M , Jones, P.B., Murray, R.M., 2002. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry* 159, 1080-92.

- 43) Cannon, M., Caspi, A., Moffitt, T.E., et al., 2002. Evidence for early-childhood, pan-developmental impairment specific to schizophreniform disorder: results from a longitudinal birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* 59, 449-56.
- 44) Cannon, M., Kendell, R., Susser, E., Jones, P., 2003. Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia. In: Murray RM, Jones PB, Susser E, Van Os J, Cannon M, eds. *The epidemiology of schizophrenia*. Cambridge: Cambridge University Press, 74-99.
- 45) Cantor-Graae, E., Pedersen, C.B., 2013. Full spectrum of psychiatric disorders related to foreign migration: a Danish population-based cohort study. *JAMA Psychiatry* 70, 427-35.
- 46) Cantor-Graae, E., Selten, J.P., 2005. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry* 162, 12-24.
- 47) Carlsson, A., 1988. The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1, 179-186.
- 48) Carpenter, W.T., Koenig, J.I., 2008. The evolution of drug development in schizophrenia: past issues and future opportunities. *Neuropsychopharmacology* 33, 2061-2079.
- 49) Castner, S.A., Williams, G.V., Goldman-Rakic, P.S., 2000. Reversal of antipsychotic-induced working memory deficits by short-term dopamine D1 receptor stimulation. *Science* 287, 2020-2.
- 50) Chan, M.Y., Holmes, W.N., 1978. The effect of some centrally active drugs on corticosterone secretion and metabolism in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 5, 641-647.
- 51) Chase, K.A., Cone, J.J., Rosen, C., Sharma, R.P., 2016. The value of interleukin 6 as a peripheral diagnostic marker in schizophrenia. *BMC Psychiatry*.16:152.
- 52) Chen, C.Y., Lane, H.Y., Lin, C.H., 2016. Effects of antipsychotics on bone mineral density in patients with schizophrenia: gender differences. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 14(3), 238-49.
- 53) Chen, W., Dang, T., Blind, R.D., Wang, Z., Cavasotto, C.N., Hittelman, A.B., Rogatsky, I., Logan, S.K., Garabedian, M.J., 2008. Glucocorticoid receptor phosphorylation differentially affects target gene expression. *Molecular Endocrinology* 22, 1754-1766.

- 54) Chiappelli, J., Shi, Q., Kodi, P., Savransky, A., Kochunov, P., Rowland, LM., et al., 2016. Disrupted glucocorticoid-Immune interactions during stress response in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology*. 63, 86-93.
- 55) Clancy, B., Darlington, R.B., Finlay, B.L., 2001. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 105, 7-17.
- 56) Clancy, M.J., Clarke, M.C., Connor, D.J., Cannon, M., Cotter, D.R., 2014. The prevalence of psychosis in epilepsy; a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry* 14, 75.
- 57) Cohrs, S., Röher, C., Jordan, W., Meier, A., Huether, G., Wuttke, W., et al., 2006. The atypical antipsychotics olanzapine and quetiapine, but not haloperidol, reduce ACTH and cortisol secretion in healthy subjects. *Psychopharmacology*. 185, 11-18.
- 58) Collip, D., Habets, P., Marcelis, M., et al., 2013. Hippocampal volume as marker of daily life stress sensitivity in psychosis. *Psychol Med*. 43, 1377-1387.
- 59) Cooper, G.D., Harrold, J.A., Halford, J.C., Goudie, A.J., 2008. Chronic clozapine treatment in female rats does not induce weight gain or metabolic abnormalities but enhances adiposity: implications for animal models of antipsychotic-induced weight gain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 32(2), 428-436.
- 60) Corcoran, C., Walker, E., Huot, R., et al., 2003. The stress cascade and schizophrenia: etiology and onset. *Schizophr Bull*. 29, 671-692.
- 61) Costa, J.L., Smith, G., Watson, M., Lin, J.M., Callon, K., Gamble, G., et al., 2011. The atypical antipsychotic clozapine decreases bone mass in rats in vivo. *Schizophr Res*. 126, 291-7.
- 62) Cotter, D., Pariante, M., 2002. Stress and the progression of the developmental hypothesis of schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 181, 363-365.
- 63) Crow, T.J., 1995. Brain changes and negative symptoms in schizophrenia. *Psychopathology* 28, 18-21.
- 64) Crow, T.J., 2008. The 'big bang' theory of the origin of psychosis and the faculty of language. *Schizophrenia Research*. 102(1-3), 31-52.
- 65) D'Souza, D.C., Abi-Saab, W.M., Madonick, S., et al., 2005. Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol Psychiatry* 57, 594-608.



- 66) D'Souza, D.C., Perry, E., MacDougall, L., et al., 2004. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology* 29, 1558-72.
- 67) Daskalakis, N.P., Binder, E.B., 2015. Schizophrenia in the spectrum of gene-stress interactions: the FKBP5 example. *Schizophr Bull* 41, 323-329.
- 68) Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, E.F., McGrath, J., 2003. A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull* 29, 587-93.
- 69) Davies, T.H., Ning, Y.M., Sánchez, E.R., 2002. A new first step in activation of steroid receptors: hormone-induced switching of FKBP51 and FKBP52 immunophilins. *J. Biol. Chem.* 277, 4597-4600.
- 70) Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M., 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148, 1474-1486.
- 71) De Kloet, E., Vreugdenhill, E., Oitzl, M., Joels, M., 1998. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 19, 269-301.
- 72) Dean, K., Murray, R.M., 2005. Environmental risk factors for psychosis. *Dialogues Clin. Neurosci.* 7, 69-80.
- 73) Delva, N.J., Crammer, J.L., Jarzylo, S.V., Lawson, J.S., Owen, J.A., Sribney, M., et al., 1989. Osteopenia, pathological fractures, and increased urinary calcium excretion in schizophrenic patients with polydipsia. *Biological Psychiatry*. Dec; 26(8), 781-93.
- 74) Denny, W.B., Valentine, D.L., Reynolds, P.D., Smith, D.F., Scammell, J.G., 2000. Squirrel Monkey Immunophilin FKBP51 Is a Potent Inhibitor of Glucocorticoid Receptor Binding. *Endocrinology*. 141, 4107–4113.
- 75) Dinan, T.G., 2004. Stress and the genesis of diabetes mellitus in schizophrenia. *Br J Psychiatry Suppl.* 47, S72-5.
- 76) Downhill Jr., J.E., Buchsbaum, M.S., Wei, T., Spiegel-Cohen, J., Hazlett, E.A., Haznedar, M.M., Silverman, J., Siever, L.J., 2000. Shape and size of the corpus callosum in schizophrenia and schizotypal personality disorder. *Schizophr. Res.* 42, 193-208.
- 77) Dracheva, S., Marras, S.A., Elhakem, S.L., Kramer, F.R., Davis, K.L., Haroutunian, V., 2001. N-methyl-D-aspartic acid receptor expression in the

- dorsolateral prefrontal cortex of elderly patients with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 158, 1400-1410.
- 78) Dunjic-Kostic, B., Jasovic-Gasic, M., Ivkovic, M., Radonjic, N.V., Pantovic, M., Damjanovic, A., et al., 2013. Serum levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in exacerbation and remission phase of schizophrenia. *Psychiatr Danub.* 25(1), 55-61.
- 79) Eaton, W.W., Byrne, M., Ewald, H., Mors, O., Chen C.Y., Agerbo, E., et al., 2006. Association of schizophrenia and autoimmune diseases: linkage of Danish national registers. *Am J Psychiatry.* 163, 521–8.
- 80) Edwards, C.R.W., Stewart, P.M., Burt, D., Brett, L., McIntyre, M.A., Sutanto, W.S., de Kloet, E.R., Monder, C., 1988. Localisation of 11 $\beta$ - hydroxysteroid dehydrogenase-tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. *Lancet* ii, 986-989.
- 81) Emamian, E.S., Karayiorgou, M., Gogos, J.A., 2004. Decreased phosphorylation of NMDA receptor type 1 at serine 897 in brains of patients with Schizophrenia. *J Neurosci.* 24 (7), 1561-1564.
- 82) Ewald, E.R, Wand, G.S., Seifuddin, F., Yang, X., Tamashiro, K.L., Potash, J.B., Zandi, P., Lee, R.S., 2014. Alterations in DNA methylation of Fkbp5 as a determinant of blood-brain correlation of glucocorticoid exposure. *Psychoneuroendocrinology.* 44, 112-122.
- 83) Exner, C., Boucsein, K., Degner, D., Irle, E., Weniger, G., 2004. Impaired emotional learning and reduced amygdala size in schizophrenia: a 3-month follow-up. *Schizophr Res.* 71, 493-503.
- 84) Falconer, I.R., Langley, J.V., Vacek, A.T., 1983. Effect of prolactin on 86Rb+ uptake, potassium content and [G-3H]ouabain binding of lactating rabbit mammary tissue. *J Physiol. Jan;* 334, 1-17.
- 85) Farde, L., Hall, H., Ehrin, E., Sedvall, G., 1986. Quantitative analysis of D2 dopamine receptor binding in the living human brain by PET. *Science* 231, 258-61.
- 86) Farde, L., Wiesel, F., Nordstrom, A., Sedvall, G., 1989. D1- and D2-dopamine receptor occupancy during treatment with conventional and atypical neuroleptics. *Psychopharmacology (Berl)* 99, S28-S31.

- 87) Fatemi, S.H., Folsom, T.D., 2009. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr. Bull.* 35, 528-548.
- 88) Fearon, P., Lane, A., Airie, M., Scannell, J., McGowan, A., Byrne, M., Cannon, M., Cotter, D., Murphy, P., Cassidy, B., Waddington, J., Larkin, C., O'Callaghan, E., 2001. Is reduced dermatoglyphic a-b ridge count a reliable marker of developmental impairment in schizophrenia? *Schizophr. Res.* 50, 151–157.
- 89) Ferno, J., Ersland, K.M., Duus, I.H., González-García, I., Fossan, K.O., Berge, R.K., et al., 2015. Olanzapine depot exposure in male rats: Dose-dependent lipogenic effects without concomitant weight gain. *Eur Neuropsychopharmacol.* 25(6), 923-32.
- 90) Fish, B., Kendler, K.S., 2005. Abnormal infant neurodevelopment predicts schizophrenia spectrum disorders. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 15, 348-361.
- 91) Fonseka, T.M., Müller, D.J., Kennedy, S.H., 2016. Inflammatory Cytokines and Antipsychotic Induced Weight Gain: Review and Clinical Implications. *Mol Neuropsychiatry.* 2(1), 1-14.
- 92) Freedman, R., 2003. Schizophrenia. *N Engl J Med.* 349, 1738-1749.
- 93) Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G., 2000. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev.* 80, 1523-631.
- 94) Frommberger, U.H., Bauer, J., Haselbauer, P., Fräulin, A., Riemann, D. & Berger, M., 1997. Interleukin-6 (IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 247, 228-33.
- 95) Fuller, P.J., Smith, B.J., Rogerson, F.M., 2004. Cortisol resistance in the New World revisited. *Trends Endocrinol Metab.* 15, 296-299.
- 96) Gallagher, P., Watson, S., Smith, M.S., Young, A.H., Ferrier, I.N., 2007. Plasma cortisoldehydroepiandrosterone (DHEA) ratios in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr. Res.* 90, 258-265.
- 97) Ganguli, R., Yang, Z., Shurin, G., Chengappa, K.N., Brar, J.S., Gubbi, A.V. et al., 1994. Serum Interleukin-6 concentrations in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res* 51, 1-10.

- 98) García-Osta, A., Frechilla, D., Del Río, J., 2003. Reduced basal and phencyclidine-induced expression of heat shock protein-70 in rat prefrontal cortex by the atypical antipsychotic abaperidone. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27 (1), 31-6.
- 99) Gardos, G., Casey, D.E., Cole, J.O., et al., 1994. Ten year outcome of tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 151, 836-41.
- 100) Gassó, P., Mas, S., Molina, O., Bernardo, M., Lafuente, A., Parellada, E., 2012. Neurotoxic/neuroprotective activity of haloperidol, risperidone and paliperidone in neuroblastoma cells. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 36(1), 71-77.
- 101) Géranton, S.M., Morenilla-Palao, C., Hunt, S.P., 2007. A role for transcriptional repressor methyl-CpGbinding protein 2 and plasticity-related gene serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1 in the induction of inflammatory pain states. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 27, 6163-6173.
- 102) Geyer, M.A., Segal, D.S., Greenberg, B.D., 1984. Increased startle responding in rats treated with phencyclidine. *Neurobeha Toxicol Terato* 6, 1-4.
- 103) Gilmore, J.H., van Tol, J.J., Lewis Streicher, H., Williamson, K., Cohen, S.B., Greenwood, R.S., Charles, H.C., Kliewer, M.A., Whitt, J.K., Silva, S.G., Hertzberg, B.S., Chescheir, N.C., 2001. Outcome in children with fetal mild ventriculomegaly: a case series. *Schizophr. Res.* 48, 219-226.
- 104) Goldberg, T.E., Bigelow, L.B., Weinberger, D.R., Daniel, D.G., Kleinman, J.E., 1991. Cognitive and behavioral effects of coadministration of dextro-amphetamine and haloperidol in schizophrenia. *Am J Psychiat* 148, 78-84.
- 105) Goldman, M.B., Gnerlich, J., Hussain, M., 2007. Neuroendocrine responses to a cold pressor stimulus in polydipsic hyponatremic and in matched schizophrenic patients. *Neuropsychopharmacol.* 32, 1611-1621.
- 106) Gomez-Sanchez, E.P., 1986. Intracerebroventricular infusion of aldosterone induces hypertension in rats. *Endocrinology* 118, 819-823.
- 107) Gomez-Sanchez, E.P., Gomez-Sanchez, C.E., 1992. Central hypertensinogenic effects of glycyrrhizic acid and carbenoxolone. *Am. J. Physiol.* 263, 1125–1130.
- 108) Gottesman II. Schizophrenia genesis: the origins of madness. A series of books in psychology. New York: Freeman/Times Books/Henry Holt & Co, 1991.

- 109) Gottesman, II, Shields, J., 1967. A polygenic theory of schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 58, 199-205.
- 110) Grad, I., Picard, D., 2007. The glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones. *Mol Cell Endocrinol.* 275(1-2), 2-12. Epub 2007 Jun 2.
- 111) Graham, S.M., Howgate, D., Anderson, W., Howes, C., Heliotis, M., Mantalaris, A., et al., 2011. Risk of osteoporosis and fracture incidence in patients on antipsychotic medication. *Expert Opinion on Drug Safety.* 10(4), 575-602.
- 112) Gressier, F., Porcelli, S., Calati, R., Serretti, A., 2016. Pharmacogenetics of clozapine response and induced weight gain: A comprehensive review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol.* Feb 26(2):163-185.
- 113) Gur, R.E., Keshavan, M.S., Lawrie, S.M., 2007. Deconstructing psychosis with human brain imaging. *Schizophr Bull.* 33, 921-931.
- 114) Haack, M., Hinze-Selch, D., Fenzel, T., Kraus, T., Kühn, M., Schuld, A. et al., 1999. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J Psychiatr Res* 33, 407-18.
- 115) Hall, J., Trent, S., Thomas, K.L., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., 2015. Genetic risk for schizophrenia: convergence on synaptic pathways involved in plasticity. *Biol Psychiatry* 77, 52-58.
- 116) Hamshere, M.L., Stergiakouli, E., Langley, K., et al., 2013. Shared polygenic contribution between childhood attention-deficit hyperactivity disorder and adult schizophrenia. *Br J Psychiatry* 203, 107-11.
- 117) Handley, R., Mondelli, V., Zelaya, F., Marques, T., Taylor, H., Reinders, A.A., et al., 2016. Effects of antipsychotics on cortisol, interleukin-6 and hippocampal perfusion in healthy volunteers. *Schizophr Res.* 174(1-3), 99-105.
- 118) Hartmann, J., Wagner, K.V., Liebl, C., Scharf, S.H., Wang, X.D., Wolf, M., Hausch, F., Rein, T., Schmidt, U., Touma, C., Cheung-Flynn, J., Cox, M.B., Smith, D.F., Holsboer, F., Müller, M.B., Schmidt, M.V., 2012. The involvement of FK506-binding protein 51 (FKBP5) in the behavioral and neuroendocrine effects of chronic social defeat stress. *Neuropharmacology.* 62(1), 332-9.

- 119) Hashimoto, K., Minabe, Y., Iyo, M., 1997. Expression of cyclooxygenase-2 mRNA in rat retrosplenial cortex following administration of phencyclidine. *Brain Res* 762, 259-63.
- 120) Hashimoto, K., Tomitaka, S., Narita, N., Minabe, Y., Iyo, M., Fukui, S., 1996. Induction of heat shock protein (HSP)-70 in posterior cingulate and retrosplenial cortex of rat brain by dizocilpine and phencyclidine: lack of protective effects of sigma receptor ligands. *Addict Biol* 1, 61-70.
- 121) Hauser, J., Feldon, J., Pryce, C.R., 2006. Prenatal dexamethasone exposure, postnatal development, and adulthood prepulse inhibition and latent inhibition in Wistar rats. *Behav. Brain Res.* 175, 51-61.
- 122) Heitzer, M.D. W.I., Sanchez, E.R., Witchel, S.F., DeFranco, D.B., 2007. Glucocorticoid receptor physiology. *Rev Endocr Metab Disord* 8, 321-330.
- 123) Henquet, C., Rosa, A., Krabbendam, L., et al., 2006. An experimental study of catechol-o-methyltransferase Val158Met moderation of delta-9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology* 31, 2748-57.
- 124) Higuchi, T., Komoda, T., Sugishita, M., Yamazaki, J., Miura, M., Sakagishi, Y., et al., 1987. Certain neuroleptics reduce bone mineralization in schizophrenic patients. *Neuropsychobiology.* 18(4), 185-8.
- 125) Himmerich, H., Berthold-Losleben, M. & Pollmächer, T., 2009. The relevance of the TNF-alpha system in psychiatric disorders. *Fortschr Neurol Psychiatr* 77, 334-45.
- 126) Hoeijmakers, L., Harbich, D., Schmid, B., Lucassen, P.J., Wagner, K.V., Schmidt, M.V., et al., 2014. Depletion of FKBP51 in Female Mice Shapes HPA Axis Activity. *PLoS ONE* 9(4):e95796.
- 127) Hollister, J.M., Macho' n, R.A., Mednick, S.A., 1995. A multidisciplinary approach to the neurodevelopment of schizophrenia. In: Mednick, S.A., Hollister, J.M. (Eds.), *Neural Development and Schizophrenia*. Plenum Press, New York, pp. 1-11.
- 128) Holmes, M.C., Seckl, J.R., 2006. The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Mol Cell Endocrinol.* 248(1-2), 9-14.

- 129) Holsboer-Trachsler, E., Buol, C., Wiedemann, K., et al, 1987. Dexamethasone suppression test in severe schizophrenic illness: effects of plasma dexamethasone and caffeine levels. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 75, 608-613.
- 130) Hubler, T.R., Scammell, J.G., 2004. Intronic hormone response elements mediate regulation of FKBP5 by progestins and glucocorticoids. *Cell Stress Chaperones*. 9, 243-252.
- 131) Hung, F., Chan, M.Y., 1981. The effect of long-term chlorpromazine and desipramine treatment on adrenal corticosterone, cyclic AMP, and cholesterol distribution in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 8, 567–574.
- 132) Ikonomidou, C., Bosch, F., Miksa, M., Bittigau, P., Vockler, J., Dikranian, K., et al., 1999. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science* 283, 70-4.
- 133) Incollongo Rodriguez, A.C., Epel, E.S., White, M.L., Standen, E.C., Seckl, J.R., Tomiyama, A.J., 2015. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 62, 301-18.
- 134) Ingvar, D.H., Franzén, G., 1974. Abnormalities of cerebral blood flow distribution in patients with chronic schizophrenia *Acta Psychiatr Scand* 50, 425-462.
- 135) International Osteoporosis Foundation. Available at: <http://www.iofbonehealth.org>. [Last accessed 12 October 2015].
- 136) Ishima, T., Iyo, M., Hashimoto, K., 2012. Neurite outgrowth mediated by the heat shock protein Hsp90a: a novel target for the antipsychotic drug aripiprazole. *Transl. Psychiatry* 2, e170.
- 137) Ising, M., Depping, A.M., Siebertz, A., et al., 2008. Polymorphisms in the FKBP5 gene region modulate recovery from psychosocial stress in healthy controls. *Eur J Neurosci*. 28, 389-398.
- 138) Ising, M., Depping, A.M., Siebertz, A., et al., 2008. Polymorphisms in the FKBP5 gene region modulate recovery from psychosocial stress in healthy controls. *Eur J Neurosci*. 28, 389-398.
- 139) Ismail, K., Murray, R. M., Wheeler, M. J., et al, 1998. The dexamethasone suppression test in schizophrenia. *Psychological Medicine*, 28, 311-317.

- 140) Ismaili, N., Garabedian, M.J., 2004. Modulation of glucocorticoid receptor function via phosphorylation. *Ann. NY Acad. Sci.* 1024, 86-101.
- 141) Itoh, M., Adachi, M., Yasui, H., Takekawa, M., Tanaka, H., Imai, K., 2002. Nuclear export of glucocorticoid receptor is enhanced by c-Jun N-terminal kinasemediated phosphorylation. *Molecular Endocrinology* 16, 2382–2392.
- 142) Jakovljevic, M., Pivac, N., Mihaljevic-Peles, A., Mustapic, M., Relja, M., Ljubicic, D., et al., 2007. The effects of olanzapine and fluphenazine on plasma cortisol, prolactin and muscle rigidity in schizophrenic patients: a double blind study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 31(2), 399-402.
- 143) Jansen, L.M.C., Gispen-de Wied, C.C., Khan, R.S., 2000. Selective impairments in the stress response in schizophrenia patients. *Psychopharmacology*. 149, 319-325.
- 144) Jašović Gašić, M., Marić, N., 2010. Shizofrenija. U: Jašović Gašić M, Toševski Lečić D urednici. *Psihijatrija*. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID, 112-127.
- 145) Javitt, D.C., 1987. Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia. *Hillside J. Clin. Psychiatry* 9, 12-35.
- 146) Javitt, D.C., Zukin, S.R., 1991. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148, 1301-1308.
- 147) Jelić, Đ., Stefanović, D., Petronijević, M., Anđelić-Jelić, M., 2008. Zašto je dvostruka apsorpciometrija X-zraka zlatni standard u dijagnostici osteoporoze. *Vojnosanit Pregl*, 65(12), 919-922.
- 148) Jentsch, J.D., Roth, R.H., 1999. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 20, 201-225.
- 149) Jevtić, G, Nikolić, T, Mirčić, A, Stojković, T, Velimirović, M, Trajković, V, et al., 2016. Mitochondrial impairment, apoptosis and autophagy in a rat brain as immediate and long-term effects of perinatal phencyclidine treatment - influence of restraint stress. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 66, 87-96.
- 150) Johnson, J.W., Archer, P., 1987. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 325, 529-531.



- 151) Jones, C.A., Watson, D.J.G., Fone, K.C.F., 2011. Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol.* 164 (4), 1162-1194.
- 152) Joyce, E.M., Roiser, J.P., 2007 Cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 20, 268-72.
- 153) Kahn, R.S., Siever, L., Davidson, M., Greenwald, C., Moore, C., 1993. Haloperidol and clozapine treatment and their effect on M-chlorophenylpiperazine-mediated responses in schizophrenia: implications for the mechanism of action of clozapine. *Psychopharmacology* 112 (1 Suppl), S90–S94.
- 154) Kane, J., Honigfeld, G., Singer, J., Meltzer, H., 1988. Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. *Arch. Gen. Psychiatry* 45, 789-796.
- 155) Kang, C.B., Hong, Y., Dhe-Paganon, S., Yoon, H.S., 2008. FKBP family proteins: immunophilins with versatile biological functions. *Neurosignals* 16, 318-325.
- 156) Kanis, J., McCloskey, E., Johansson, H., Cooper, C., Rizzoli, R., Reginster, J.Y., 2013. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* 24, 23–57.
- 157) Kapoor, A., Kostaki, A., Janus, C., Matthews, S.G., 2009. The effects of prenatal stress on learning in adult offspring is dependent on the timing of the stressor. *Behav. Brain Res.* 197, 144-149.
- 158) Kapur, S., VanderSpek, S.C., Brownlee, B.A., Nobrega, J.N., 2003. Antipsychotic dosing in preclinical models is often unrepresentative of the clinical condition: a suggested solution based on in vivo occupancy. *J Pharmacol Exp Ther.* 305 (2), 625-631.
- 159) Kassel, O., и Herrlich, P., 2007. Crosstalk between the glucocorticoid receptor and other transcription factors: molecular aspects. *Mol. Cell. Endocrinol.* 275, 13-29.
- 160) Kawai, M., Rosen, C.J., 2010. Minireview: A skeleton in serotonin's closet? *Endocrinology* 151, 4103-8.
- 161) Kessler, R.M., Woodward, N.D., 2009. Dopamine D2 receptor levels in Striatum, Thalamus, Substantia nigra, Limbic regions and cortex in schizophrenic subjects. *Biol Psychiatry* 65, 1024-1031.
- 162) Khandaker, G.M., Zimbron, J., Dalman, C., Lewis, G., Jones, P.B., 2012. Childhood infection and adult schizophrenia: a meta-analysis of population-based studies. *Schizophr Res* 139, 161-68.

- 163) Khandaker, G.M., Zimbron, J., Lewis, G., Jones, P.B., 2013. Prenatal maternal infection, neurodevelopment and adult schizophrenia: a systematic review of population-based studies. *Psychol Med* 43, 239-57.
- 164) Khashan, A.S., Abel, K.M., McNamee, R., et al., 2008. Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry* 65, 146-52.
- 165) Khashan, A.S., Abel, K.M., McNamee, R., et al., 2008. Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry* 65, 146-52.
- 166) Kim, J.J., Lee, S.J., Toh, K.Y., Lee, C.U., Lee, C., Paik, I.H., 2001. Identification of antibodies to heat shock proteins 90 kDa and 70 kDa in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 1, 52 (1-2), 127-35.
- 167) Kim, J.S., Kornhuber, H.H., Schmid-Burgk, W., Holzmüller, B., 1980. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett* 20, 379-382.
- 168) Kinon, B.J., Gilmore, J.A., Liu, H., Halbreich, U.M., 2003. Hyperprolactinemia in response to antipsychotic drugs: characterization across comparative clinical trials. *Psychoneuroendocrinology*.28(2), 69-82.
- 169) Kinon, B.J., Liu-Seifert, H., Stauffer, V.L., Jacob, J., 2013. Bone loss associated with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia. *Clin Schizophr Relat Psychoses*.7, 115-123.
- 170) Kirov, G., Rees, E., Walters, J.T.R., et al., 2014. The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay. *Biol Psychiatry* 75, 378-85.
- 171) Kishimoto, T., De Hert, M., Carlson, H.E., Manu, P., Correll, C.U., 2012. Osteoporosis and fracture risk in people with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 25(5), 415-29.
- 172) Konradi, C., Heckers, S., 2003. Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacology and Therapeutics*. 97(2): 153-79.
- 173) Koran, L.M., 1976. Gamma-Aminobutyric-acid deficiency in schizophrenia. *Lancet* 2, 1025.
- 174) Kotz, A., Merkel, P., 1926. Hydromatic alkamines. *J Fuer Prakt Chem* 113, 49-76.

- 175) Krabbendam, L., van Os, J., 2005. Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence-conditional on genetic risk. *Schizophr Bull* 31, 795-99.
- 176) Kristiana, I., Sharpe, L.J., Catts, V.S., Lutze-Mann, L.H., Brown, A.J., 2010. Antipsychotic drugs upregulate lipogenic gene expression by disrupting intracellular trafficking of lipoprotein-derived cholesterol. *Pharmacogenomics J.* 10(5), 396-407.
- 177) Krstic, M.D., Rogatsky, I., Yamamoto, K.R., Garabedian, M.J., 1997. Mitogen activated and cyclin-dependent protein kinases selectively and differentially modulate transcriptional enhancement by the glucocorticoid receptor. *Mol. Cell. Biol.* 17, 3947-3954.
- 178) Kunimatsu, T., Kimura, J., Funabashi, H., Inoue, T., Seki, T., 2010. The antipsychotics haloperidol and chlorpromazine increase bone metabolism. *Regul Toxicol Pharmacol.* 58, 360-8.
- 179) Lahti, A.C., Weiler, M.A., Tamara Michaelidis, B.A., Parwani, A., Tamminga, C.A., 2001. Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology.* 25(4):455-67.
- 180) Lammers, C.H., Garcia-Borreguero, D., Schmider, J., Gotthardt, U., Dettling, M., Holsboer, F., Heuser, I.J., 1996. Combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in patients with schizophrenia and in normal controls: II. *Biol. Psychiatry* 40,560–561.
- 181) Laruelle, M., Abi-Dargham, A., Gil, R., Kegeles, L., Innis, R., 1999. Increased dopamine transmission in schizophrenia: Relationship to illness phases. *Biol Psychiatry* 46, 56-72.
- 182) Laressergues, E., Staels, B., Valeille, K., Majd, Z., Hum, D.W., Duriez, P., et al., 2010. Antipsychotic drug action on SREBPs-related lipogenesis and cholesterologenesis in primary rat hepatocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 381(5), 427-39.
- 183) Lee, R.S., Tamashiro, K.L.K., Yang, X., Purcell, R.H., Harvey, A., Willour, V.L., Huo, Y., Rongione, M., Wand, G.S., Potash, J.B., 2010. Chronic corticosterone exposure increases expression and decreases deoxyribonucleic acid methylation of Fkbp5 in mice. *Endocrinology.* 151, 4332-4343.

- 184) Lee, S.H., Ripke, S., Neale, B.M., et al, and the Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, and the International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium (IIBDGC). 2013. Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nat Genet* 45, 984-94.
- 185) Lee, T.Y., Chung, M.Y., Chung, H.K., Choi, J.H., Kim, T.Y., So, H.S., 2010. Bone density in chronic schizophrenia with long-term antipsychotic treatment: preliminary study. *Psychiatry Investig.*7, 278-284.
- 186) Lewandowski, K.E., Cohen, B.M., Ongur, D., 2011. Evolution of neuropsychological dysfunction during the course of schizophrenia and bipolar disorder. *Psychol Med* 41, 225-41.
- 187) Lewis, D.A., Hashimoto, T, Volk, D.W., 2005. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 6, 312-324.
- 188) Lewis, D.A., Levitt, P., 2002. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu. Rev. Neurosci.* 25, 409-432.
- 189) Lieberman, J.A., Perkins, D., Belger, A., et al., 2001. The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biol Psychiatry* 50, 884-97.
- 190) Lin, A., Kenis, G., Bignotti, S., Tura, G.J., De Jong, R., Bosmans, E., et al., 1998. The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr Res* 32, 9-15.
- 191) Lin, C.H., Huang, K.H., Chang, Y.C., Huang, Y.C., Hsu, W.C., Lin, C.Y., et al., 2012. Clozapine protects bone mineral density in female patients with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.*15(7), 897-906.
- 192) Lin, C.H., Lin, C.Y., Huang, T.L., Wang, H.S., Chang, Y.C., Lane, H.Y., 2015. Sex-specific factors for bone density in patients with schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol.* 30(2), 96-102.
- 193) Lipska, B.K., Weinberger, D.R., 2000. To model a psychotic disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 23, 223-239.
- 194) Lloyd, T., Dazzan, P., Dean, K., Park, S.B., Fearon, P., Doody, G.A., Tarrant, J., Morgan, K.D., Morgan, C., Hutchinson, G., Leff, J., Harrison, G., Murray, R.M., Jones, P.B., 2008. Minor physical anomalies in patients with first-episode psychosis: their frequency and diagnostic specificity. *Psychol. Med.* 38, 71-77.

- 195) Longone, P., di Michele, F., D'Agati, E., Romeo, E., Pasini, A., Rupprecht, R., 2011. Neurosteroids as neuromodulators in the treatment of anxiety disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*. Oct. 19;2:55.
- 196) Loones, M.T., Chang, Y., Morange, M., 2000. The distribution of heat shock proteins in the nervous system of the unstressed mouse embryo suggests a role in neuronal and non-neuronal differentiation. *Cell Stress Chaperones* 5, 291e305.
- 197) Luby, E.D., Cohen, B.D., Rosenbaum, G., Gottlieb, J.S., Kelly, R., 1959. Study of a new schizophrenic-like drug: Sernyl. *Arch. Neurol Psychiat.* 81, 363-369.
- 198) Luijk, M.P., Velders, F.P., Tharner, A., et al., 2010. FKBP5 and resistant attachment predict cortisol reactivity in infants: gene-environment interaction. *Psychoneuroendocrinology* 35, 1454-1461.
- 199) Luisi, B.F., Xu, W.X., Otwinowski, Z., Freedman, L.P., Yamamoto, K.R., Sigler, P.B., 1991. Crystallographic analysis of the interaction of the glucocorticoid receptor with DNA. *Nature*. 352(6335), 497-505.
- 200) Lundberg, G., Gupta, R., Montgomery, S., 1976. Phencyclidine – Patterns seen in street drug analysis. *Clin. Toxicol.* 9, 503.
- 201) Luo, W., Sun, W., Taldone, T., Rodina, A., Chiosis, G., 2010. Heat shock protein 90 in neurodegenerative diseases. *Mol. Neurodegener.* 5, 24.
- 202) Lupsa, B.C., Insogna, K., 2015. Bone Health and Osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 44(3), 517-30.
- 203) Maes, M., Bocchio Chiavetto, L., Bignostti, S., Battisa Tura, G.J., Pioli, R., Boin, F. et al., 2002. Increased serum interleukin-8 and interleukin-10 in schizophrenic patients resistant to treatment with neuroleptics and the stimulatory effects of clozapine on serum leukemia inhibitory factor receptor. *Schizophr Res* 54, 281-91.
- 204) Mahon, P.B., Zandi, P.P., Potash, J.B., Nestadt, G., Wand, G.S., 2013. Genetic association of FKBP5 and CRHR1 with cortisol response to acute psychosocial stress in healthy adults. *Psychopharmacology (Berl)*. 227,231-241.
- 205) March, D., Hatch, S.L., Morgan, C., et al., 2008. Psychosis and place. *Epidemiol Rev* 30, 84-100.
- 206) Marco, E.J., Wolkowitz, O.M., Vinogradov, S., Poole, J.H., Lichtmacher, J., Reus, V.I., 2002. Double-blind antigluocorticoid treatment in schizophrenia and schizoaffective disorder: a pilot study. *World J. Biol. Psychiatry* 3, 156–161.

- 207) Maric, N., Popovic, V., Jasovic-Gasic, M., Pilipovic, N., van Os, J., 2005. Cumulative exposure to estrogen and psychosis: a peak bone mass, case-control study in first-episode psychosis. *Schizophr Res* 73, 351-5.
- 208) Mata, I., Perez-Iglesias, R., Roiz-Santianez, R., Tordesillas-Gutierrez, D., GonzalezMandly, A., Vazquez-Barquero, J.L., Crespo-Facorro, B., 2009. A neuregulin 1 variant is associated with increased lateral ventricle volume in patients with first-episode schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 65, 535-540.
- 209) McDonald, C., Murray, R.M., 2000. Early and late environmental factors for schizophrenia. *Brain Res. Rev.* 31, 130-137.
- 210) McEwen, B., Stellar, E., 1993. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Int Med* 153, 2093-101.
- 211) McGrath, J., Saha, S., Chant, D., Welham, J., 2008. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev* 30, 67-76.
- 212) McGrath, J.J., Eyles, D.W., Pedersen, C.B., et al., 2010. Neonatal vitamin D status and risk of schizophrenia: a population-based case-control study. *Arch Gen Psychiatry* 67, 889-94.
- 213) McGrath, J.J., Petersen, L., Agerbo, E., Mors, O., Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., 2014. A comprehensive assessment of parental age and psychiatric disorders. *JAMA Psychiatry* 71, 301-09.
- 214) McGrath, J.J., van Os, J., Hoyos, C., Jones, P.B., Harvey, I., Murray, R.M., 1995. Minor physical anomalies in psychoses: associations with clinical and putative aetiological variables. *Schizophr. Res.* 18, 9-20.
- 215) McKibben, C.E., Reynolds, G.P., Jenkins, T.A., 2016. Concurrent Risperidone administration attenuates the development of Locomotor sensitization following sub-chronic phencyclidine in rats. *Pharmacopsychiatry.* 49(2), 62-5.
- 216) McNamara, R.K. и Lotrich, F.E., 2012. Elevated immune-inflammatory signaling in mood disorders: a new therapeutic target? *Expert Rev Neurother* 12,1143-61.
- 217) Meaney, A.M., O'Keane, V., 2002. Prolactin and schizophrenia: clinical consequences of hyperprolactinaemia. *Life Sciences.* 71(9), 979-992.
- 218) Meltzer, H.Y., 1989. Clinical studies on the mechanism of action of clozapine: the dopamine serotonin hypothesis of schizophrenia. *Psychopharmacology.* 99, 18-27.

- 219) Meyer, U., Feldon, J., 2010. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. *Prog Neurobiol.* 90 (3), 285-326.
- 220) Mihaljevic, M., Zeljic, K., Soldatovic, I., Andric, S., Mirjanic, T., Richards, A., Mantripragada, K., Pekmezovic, T., Novakovic, I., Maric, N.P., 2017. The emerging role of the FKBP5 gene polymorphisms in vulnerability-stress model of schizophrenia: further evidence from a Serbian population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 267 (6), 527-539.
- 221) Miller, A.L., Webb, M.S., Copik, A.J., Wang, Y., Johnson, B.H., Kumar, R., et al., 2005. p38 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) is a key mediator in glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoid cells: correlation between p38 MAPK activation and site-specific phosphorylation of the human glucocorticoid receptor at serine 211. *Mol Endocrinol* 19, 1569-83.
- 222) Miller, B., Messias, E., Miettunen, J., et al., 2011. Meta-analysis of paternal age and schizophrenia risk in male versus female offspring. *Schizophr Bull* 37, 1039-47.
- 223) Miller, B.J., Buckley, P., Seabolt, W., Mellor, A., Kirkpatrick, B., 2011. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry.* 70, 663-71.
- 224) Miyamoto, S., Duncan, G.E., Marx, C.E., Lieberman, J.A., 2005. Treatment for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Molecular Psychiatry* 10, 79-104.
- 225) Mizoguchi, K., Ishige, A., Takeda, S., Aburada, M., Tabira, T., 2004. Endogenous glucocorticoids are essential for maintaining prefrontal cortical cognitive function. *J. Neurosci.* 24, 5492-5499.
- 226) Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., Daly, D., 1997. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience* 17, 2921-2927.
- 227) Moisan, M.-P., Seckl, J.R., Edwards C.R.W., 1990.  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase bioactivity and messenger RNA expression in rat forebrain: localization in hypothalamus, hippocampus and cortex. *Endocrinology* 127, 1450-1455.

- 228) Molijn, G.J., Koper, J.W., van Uffelen, C.J., de Jong, F.H., Brinkmann, A.O., Bruining, H.A., et al., 1995. Temperature-induced down-regulation of the glucocorticoid receptor in peripheral blood mononuclear leucocyte in patients with sepsis or septic shock. *Clin Endocrinol (Oxf)* 43(2), 197-203.
- 229) Molitch, M.E., 2005. Medication-induced hyperprolactinemia. *Mayo Clin Proc.* Aug; 80(8), 1050-7.
- 230) Mondelli, V., Pariante, C.M., Navari, S., et al., 2010. Higher cortisol levels are associated with smaller left hippocampal volume in first-episode psychosis. *Schizophr Res.* 119, 75-78.
- 231) Monji, A., Kato, T. & Kanba, S., 2009. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 63, 257-65.
- 232) Moore, T.H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., et al., 2007. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet* 370, 319-28.
- 233) Morishima, Y., Murphy, P.J., Li, D.P., Sanchez, E.R., Pratt, W.B., 2000. Stepwise assembly of a glucocorticoid receptor.hsp90 heterocomplex resolves two sequential ATP-dependent events involving first hsp70 and then hsp90 in opening of the steroid binding pocket. *J Biol Chem.* 275(24), 18054-60.
- 234) Morris, B.J., Cochran, S.M., Pratt, J.A., 2005. PCP: from pharmacology to modeling schizophrenia. *Current Opinion in Pharmacology* 5, 101-106.
- 235) Morrison, P.D., Zois, V., McKeown, D.A., et al., 2009. The acute effects of synthetic intravenous  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on psychosis, mood, and cognitive functioning. *Psychol Med.*
- 236) Motyl, K.J., Dick-de-Paula, I., Maloney, A.E., Lotinun, S., Bornstein, S., de Paula, F.J., et al., 2012. Trabecular bone loss after administration of the second-generation antipsychotic risperidone is independent of weight gain. *Bone.* 50(2),490-498.
- 237) Mozayani, A., 2003. Phencyclidine - effects on human performance and behavior. *Forensic Science Review* 15, 61-74.
- 238) Müller, N., 2014. Immunology of schizophrenia. *Neuroimmunomodulation* 21, 109-16.



- 239) Müller, N., Empl, M., Riedel, M., Schwarz, M. & Ackenheil, M., 1997. Neuroleptic treatment increases soluble IL-2 receptors and decreases soluble IL-6 receptors in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 247, 308-13.
- 240) Müller, N., Riedel, M., Gruber, R., Ackenheil, M. & Schwarz, M.J., 2000. The immune system and schizophrenia. An integrative view. *Ann N Y Acad Sci* 917, 456-67.
- 241) Murphy, K.C., Owen, M.J., 1996. Minor physical anomalies and their relationship to the aetiology of schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 168, 139-142.
- 242) Murray, R.M., Lewis, S.W., 1987. Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *Br Med J (Clin Res Ed)* 295, 681- 682.
- 243) Myin-Germeys, I., van Os, J., 2007. Stress-reactivity in psychosis: evidence for an affective pathway to psychosis. *Clin Psychol Rev.* 27, 409-424.
- 244) Nagai, T., Noda, Y., Une, T., Furukawa, K., Furukawa, H., Kan, Q.M., Nabeshima, T., 2003. Effect of AD-5423 on animal models of schizophrenia: phencyclidine-induced behavioral changes in mice. *Neuroreport* 14(2), 269-72.
- 245) Nandra, K.S., Agius, M., 2012. The differences between typical and atypical antipsychotics: the effects on neurogenesis. *Psychiatria Danubina Suppl* 1, S95-99.
- 246) National Institutes of Health Office of the Director, 2000. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *NIH Consensus Statement.* 17,1-45.
- 247) Naudin, J., Capo, C., Giusano, B., Mège, J.L. & Azorin, J.M., 1997. A differential role for interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in schizophrenia? *Schizophr Res* 26, 227-33.
- 248) Network and Pathway Analysis Subgroup of the Psychiatric Genomics Consortium; International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium (IIBDGC); International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium IIBDGC. Psychiatric genome-wide association study analyses implicate neuronal, immune and histone pathways. *Nat Neurosci.* 2015;18, 199-209.
- 249) Newcomer, J.W., Craft, S., Askins, K., Hershey, T., Bardgett, M.E., Csernansky, J.G., Gagliardi, A.E., Vogler, G., 1998. Glucocorticoid interactions with memory function in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 23, 65-72.

- 250) Ng, W., Kennar, R., Uetrecht, J., 2014. Effect of Clozapine and Olanzapine on Neutrophil Kinetics: Implications for Drug-Induced Agranulocytosis. *Chem Res Toxicol.* 27(7), 1104-8.
- 251) Nielsen, P.F.R., Benros, M.E., Mortensen, P.B., 2014. Hospital contacts with infection and risk of schizophrenia: a population-based cohort study with linkage of Danish national registers. *Schizophr Bull* 40, 1526-32.
- 252) Noto, C., Ota, V.K., Gouvea, E.S., Rizzo, L.B., Spindola, L.M., Honda, P.H., et al., 2015. Effects of Risperidone on Cytokine Profile in Drug-Naïve First-Episode Psychosis. *Int J Neuropsychopharmacol.*18, pyu042.
- 253) Nuber, U.A., Kriaucionis, S., Roloff, T.C., Guy, J., Selfridge, J., Steinhoff, C., Schulz, R., Lipkowitz, B., Ropers, H.H., Holmes, M.C., Bird, A., 2005. Up-regulation of glucocorticoid-regulated genes in a mouse model of Rett syndrome. *Hum Mol Genet.* 14, 2247-2256.
- 254) Oakley, R.H., Cidlowski, J.A., 2013. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J Allergy Clin Immunol.* 132, 1033-1044.
- 255) O'Brien, S.M., Scully, P. & Dinan, T.G., 2008. Increased tumor necrosis factor-alpha concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbations of schizophrenia. *Psychiatry Res* 160, 256-62.
- 256) O'Connell, K.E., Thakore, J., Dev, K.K.. 2014. Pro-inflammatory cytokine levels are raised in female schizophrenia patients treated with clozapine. *Schizophr Res.* 156(1), 1-8.
- 257) O'Donovan, M.C., Williams N.M., Owen M.J., 2003. Recent advances in the genetics of schizophrenia. *Hum. Mol. Genet.* 12(2): R125-33.
- 258) Ohlson, L.O., Larsson, B., Svardstam, K., Welin, L., Eriksson, H., Wilhelmsen, L., et al., 1985. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes.*34, 1055-8.
- 259) O'Keane, V., Meaney, A.M., 2005. Antipsychotic drugs: a new risk factor for osteoporosis in young women with schizophrenia? *J Clin Psychopharmacol.* 25(1), 26-31.

- 260) Okita, K., Kanahara, N., Nishimura, M., Yoshida, T., Yasui-Furukori, N., Niitsu, T., et al., 2014. Second-generation antipsychotics and bone turnover in schizophrenia. *Schizophr Res.* 157(1-3), 137-41.
- 261) Olney, J.W., Farber, N.B., 1995a. Glutamate receptor Dysfunction and Schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 52, 998-1007.
- 262) Olney, J.W., Farber, N.B., 1995b. NMDA antagonists as neurotherapeutic drugs, psychotogens, neurotoxins, and research tools for studying schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 13, 335-345.
- 263) Opler, M.G., Susser, E.S., 2005. Fetal environment and schizophrenia. *Environ. Health Perspect.* 113, 1239-1242.
- 264) Orlovska, S., Pedersen, M.S., Benros, M.E., Mortensen, P.B., Agerbo, E., Nordentoft, M., 2014. Head injury as risk factor for psychiatric disorders: a nationwide register-based follow-up study of 113,906 persons with head injury. *Am J Psychiatry* 171, 463-69.
- 265) Owen, M.J., 2012. Implications of genetic findings for understanding schizophrenia. *Schizophr Bull* 38, 904-07.
- 266) Owen, M.J., Sawa, A., Mortensen, P.B., 2016. Schizophrenia. *Lancet.* Jul 2, 388(10039), 86-97.
- 267) Paakinaho, V., Makkonen, H., Jääskeläinen, T., Palvimo, J.J., 2010. Glucocorticoid receptor activates poised FKBP51 locus through long-distance interactions. *Mol Endocrinol Baltim Md.* 24, 511-525.
- 268) Pagsberg, A.K., Baare, W.F., Raabjerg Christensen, A.M., Fagerlund, B., Hansen, M.B., Labianca, J., Krabbe, K., Aarkrog, T., Paulson, O.B., Hemmingsen, R.P., 2007. Structural brain abnormalities in early onset first-episode psychosis. *J. Neural Transm.* 114, 489-498.
- 269) Paksarian, D., Eaton, W.W., Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., 2015. Childhood residential mobility, schizophrenia, and bipolar disorder: a population-based study in Denmark. *Schizophr Bull* 41, 346-54.
- 270) Pariante, C. M. & Miller, A. H., 2001. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biological Psychiatry* 49, 391-404.

- 271) Pasquali, R., Cantobelli, S., Casimirri, F., Capelli, M., Bortoluzzi, L., Flaminia, R., et al., 1993. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in obese women with different patterns of body fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab.* 77, 341-6.
- 272) Pelletier, G., Luu-The, V., Li, S., Bujold, G., Labrie, F., 2007. Localization and glucocorticoid regulation of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA in the male mouse forebrain. *Neuroscience* 145, 110-115.
- 273) Petronijevic, N., Sopta, J., Doknic, M., Radonjic, N., Petronijevic, M., Pekic, S., et al., 2013. Chronic risperidone exposure does not show any evidence of bone mass deterioration in animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 46, 58-63.
- 274) Peuskens, J., Pani, L., Detraux, J., De Hert, M., 2014. The effects of novel and newly approved antipsychotics on serum prolactin levels: a comprehensive literature review. *CNS Drugs.* 28(5), 421-53.
- 275) Pfefferbaum, A., Zipursky, R.B., 1991. Neuroimaging studies of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 4, 193-208.
- 276) Pickar, D., Labarca, R., Doran, A.R., et al., 1986. Longitudinal measurement of plasma homovanillic acid levels in schizophrenic patients: correlation with psychosis and response to neuroleptic treatment. *Arch Gen Psychiatry* 43, 669-76.
- 277) Pollmächer, T., Hinze-Selch, D. & Mullington, J., 1996. Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J Clin Psychopharmacol* 16, 403-9.
- 278) Popovic, V., Doknic, M., Maric, N., Pekic, S., Damjanovic, A., Miljic, D., et al., 2007. Changes in neuroendocrine and metabolic hormones induced by atypical antipsychotics in normal weight patients with schizophrenia. *Neuroendocrinology.* 85, 249-256.
- 279) Potvin, S., Stip, E., Sepehry, A.A., Gendron A., Bah, R., Kouassi, E., 2008. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry.* 63, 801-8.
- 280) Pouwels, S., van Staa, T.P., Egberts, A.C., Leufkens, H.G., Cooper, C., de Vries, F., 2009. Antipsychotic use and the risk of hip/femur fracture: a population-based case-control study. *Osteoporos Int.* 20, 1499-506.

- 281) Pratt, W.B., Toft, D.O., 1997. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr. Rev.* 18, 306-360.
- 282) Quednow, B.B., Geyer, M.A., Halberstadt, A.L., 2009. Serotonin and Schizophrenia. In: Müller CR, Jacobs B. *Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin*. London; 585-620.
- 283) Radhakrishnan, R., Wilkinson, S.T., D'Souza, D.C., 2014. Gone to pot—a review of the association between cannabis and psychosis. *Front Psychiatry* 5, 54.
- 284) Radonjić, N.V., Jakovceviski, I., Bumbaširević, V., Petronijević, N.D., 2013. Perinatal phencyclidine administration decreases the density of cortical interneurons and increases the expression of neuregulin-1. *Psychopharmacology* 227 (4), 673-683.
- 285) Radonjić, N.V., Knezević, I.D., Vilimanovich, U., Kravić-Stevović, T., Marina, L.V., Nikolić, T., Todorović, V., Bumbasirević, V., Petronijević, N.D., 2010. Decreased glutathione levels and altered antioxidant defense in an animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration. *Neuropharmacology* 58 (4-5), 739-745.
- 286) Radonjić, N.V., Petronijević, N.D., Vucković, S.M., Prostran, M.S., Nesić, Z.I., Todorović, V.R., Paunović, V.R., 2008. Baseline temperature in an animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration. *Physiol. Behav.* 93 (3), 437-443.
- 287) Rajchgot, H., Fathalli, F., Rajchgot, P., Menezes, N., Joobar, R., Boksa, P., 2009. Decreased tooth size in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 110, 194-196.
- 288) Rammes, G., Eisensamer, B., Ferrari, U., Shapa, M., Gimpl, G., Gilling, K., Parsons, C., Riering, K., Holsboer, F., Rupprecht, R., 2004. Antipsychotic drugs antagonize human serotonin type 3 receptor currents in a noncompetitive manner. *Mol. Psychiatry* 846-858.
- 289) Ramos, E.J., Suzuki, S., Marks, D., Inui, A., Asakawa, A. & Meguid, M.M., 2004. Cancer anorexia-cachexia syndrome: cytokines and neuropeptides. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 7,427-34.
- 290) Rapoport, J.L., Addington, A.M., Frangou, S., Psych, M.R., 2005. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol. Psychiatry* 10, 434-449.

- 291) Reale, M., Patruno, A., De Lutiis, M.A., Pesce, M., Felaco, M., Di Giannantonio, M. et al., 2011. Dysregulation of chemocytokine production in schizophrenic patients versus healthy controls. *BMC Neuroscience* 12, 13.
- 292) Reichenberg, A., Weiser, M., Rabinowitz, J., et al., 2002. A population-based cohort study of premorbid intellectual, language, and behavioral functioning in patients with schizophrenia, schizoaffective disorder, and nonpsychotic bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 159, 2027-35.
- 293) Reid, I.R., 2008. Relationships between fat and bone. *Osteoporos Int.* 19, 595-606.
- 294) Reul, J.M.H.M., De Kloet, E.R., 1985. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117, 2505-2512.
- 295) Reul, J.M.H.M., Gesing, A., Droste, S., Stec, I.S.M., Weber, A., Bachmann C., Bilang-Bleuel A., Holsboer F., Linthorst A.C.E., 2000. The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function. *European Journal of Pharmacology* 405, 235-249.
- 296) Richelson, E., Souder, T., 2000. Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors focus on newer generation compounds. *Life Sci.* 68, 29-39.
- 297) Riggs, B.L., Wahner, H.W., Dunn, W.L., Mazess, R.B., Offord, K.P., Melton, L.J., 1981. 3rd. Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest.* 67(2), 328-35.
- 298) Robson, A.C., Leckie, C.M., Seckl, J.R., Holmes, M.C., 1998. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the postnatal and adult rat brain. *Mol. Brain Res.* 61, 1-10.
- 299) Rogatsky, I., Logan, S.K., Garabedian, M.J., 1998. Antagonism of glucocorticoid receptor transcriptional activation by the c-Jun N-terminal kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 2050-5.
- 300) Roh, K., Roh, S., Yang, B.H., Lee, J.S., Chai, Y.G., Choi, M.R., Park, Y.C., Kim, D.J., Kim, D., Choi, J., Kim, S.H., 2008. Effects of haloperidol and risperidone on the expression of heat shock protein 70 in MK-801-treated rat C6 glioma cells. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 12, 32 (8), 1793-7.

- 301) Roland, B.L., Li, K.X.Z., Funder, J.W., 1995. Hybridization histochemical localization of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat brain. *Endocrinology* 136, 4697-4700.
- 302) Romero, E., Guaza, C., Castellano, B., Borrell, J., 2008. Ontogeny of sensorimotor gating and immune impairment induced by prenatal immune challenge in rats: implications for the etiopathology of schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 1-12
- 303) Rothermundt, M., Arolt, V., Bayer, T.A., 2001. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav Immun* 15, 319-339.
- 304) Ryan, M.C., Collins, P., Thakore, J.H., 2003. Impaired fasting glucose tolerance in first episode, drug-naïve patients with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 160, 284–289.
- 305) Ryan, M.C., Flanagan, S., Kinsella, U., Keeling, F., Thakore, J.H., 2004. The effects of atypical antipsychotics on visceral fat distribution in first episode, drug-naïve patients with schizophrenia. *Life Sci.* 74, 1999–2008.
- 306) Sanchez, E.R., 1990. Hsp56: a novel heat shock protein associated with untransformed steroid receptor complexes. *J. Biol. Chem.* 265, 22067-22070.
- 307) Scammell, J.G., Denny, W.B., Valentine, D.L., Smith, D.F., 2001. Overexpression of the FK506-binding immunophilin FKBP51 is the common cause of glucocorticoid resistance in three New World primates. *Gen Comp Endocrinol* 124, 152-165.
- 308) Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci., 2014. *Nature*, 511, 421-27.
- 309) Schmidt, U., Buell, D.R., Ionescu, I.A., Gassen, N.C., Holsboer, F., Cox, M.B., Novak, B., Huber, C., Hartmann, J., Schmidt, M.V., Touma, C., Rein, T., Herrmann, L.A., 2015. Role for synapsin in FKBP51 modulation of stress responsiveness: Convergent evidence from animal and human studies. *Psychoneuroendocrinology*. Feb;52, 43-58.
- 310) Schwarz, M.J., Riedel, M., Gruber, R., Ackenheil, M., Müller, N., 1999. Antibodies to heat shock proteins in schizophrenic patients: implications for the mechanism of the disease. *Am. J. Psychiatry* 156, 1103e1104.

- 311) Seckl, J.R. (2004) 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases: changing glucocorticoid action. *Curr. Opin. Pharmacol.* 4, 597-602.
- 312) Seckl, J.R., Walker, B.R., 2004. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 as a modulator of glucocorticoid action: from metabolism to memory. *Trends Endocrinol. Metab.* 15(9), 418-24.
- 313) Seeman, P., 2002. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can. J. Psychiatry* 47, 27-38.
- 314) Seeman, P., Corbett, R., Hubert, Van Tol, 1997. Atypical neuroleptics have low affinity for dopamine D2 receptors or are selective for D4 receptors. *Neuropsychopharmacology* 16, 93-110.
- 315) Seibel, M.J., Cooper, M.S., Zhou, H., 2013. Glucocorticoid-induced osteoporosis: mechanisms, management, and future perspectives. *Lancet Diabetes Endocrinol* 1, 59-70.
- 316) Selye H. Stress and distress. *Compr Ther.* 1975; 1:9-13.
- 317) Seriwatanachai, D., Krishnamra, N., van Leeuwen, J.P., 2009. Evidence for direct effects of prolactin on human osteoblasts: Inhibition of cell growth and mineralization. *J Cell Biochem.* 107(4), 677-85.
- 318) Seriwatanachai, D1., Thongchote, K., Charoenphandhu, N., Pandaranandaka, J., Tudpor, K., Teerapornpuntakit, J., et al., 2008. Prolactin directly enhances bone turnover by raising osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand/osteoprotegerin ratio. *Bone. Mar;* 42(3), 535-46.
- 319) Shenton, M.E., Dickey, C.C., Frumin, M., McCarley, R.W., 2001. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 49, 1-52.
- 320) Sinclair, D., Fillman, S.G., Webster, M.J., Weickert, C.S., 2013. Dysregulation of glucocorticoid receptor co-factors FKBP5, BAG1 and PTGES3 in prefrontal cortex in psychotic illness. *Sci Rep.* 3, 3539.
- 321) Smith, D.F., Faber, L.E., Toft, D.O., 1990. Purification of unactivated progesterone receptor and identification of novel receptor-associated proteins. *J. Biol. Chem.* 265, 3996-4003.
- 322) Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, O.P., Mors, O., Mortensen, P.B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., TuulioHenriksson, A., Ingason, A., Hansen, T.,



Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Børglum, A.D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Böttcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Möller, H.J., Giegling, I., Rasmussen, H.B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Réthelyi, J.M., Magnusdottir, B.B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J.R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T.E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemeny, L.A., Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP). Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Toulopoulou, T., Need, A.C., Ge, D., Yoon, J.L., Shianna, K.V., Freimer, N.B., Cantor, R.M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jönsson, E.G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nöthen, M.M., Rietschel, M., Matthews, P.M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D.B., Stefansson, K., Collier, D.A., 2009. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*. 460, 744-7.

- 323) Steinpreis, R.E., 1996. The behavioral and neurochemical effects of phencyclidine in humans and animals: some implications for modeling psychosis. *Behavioural Brain Research* 74, 45-55.
- 324) Steward, L.J., Kennedy, M.D., Morris, B.J., Pratt, J.A., 2012. Chronic phencyclidine (PCP)-induced modulation of muscarinic receptor mRNAs in rat brain: Impact of antipsychotic drug treatment. *Neuropharmacology* 62 (3), 1554-1563.
- 325) Stojanovic, A., Martorell, L., Montalvo, I., Ortega, L., Monseny, R., Vilella, E., et al., 2014. Increased serum interleukin-6 levels in early stages of psychosis: associations with at-risk mental states and the severity of psychotic symptoms. *Psychoneuroendocrinology*. 41, 23-32.
- 326) Stojković, T., Radonjić, N.V., Velimirović, M., Jevtić, G., Popović, V., Doknić, M., Petronijević, N.D., 2012. Risperidone reverses phencyclidine induced decrease in glutathione levels and alterations of antioxidant defense in rat brain. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 39 (1), 192-199.
- 327) Storer, C.L., Dickey, C.A., Galigniana, M.D., Rein, T., Cox, M.B., 2011. FKBP51 and FKBP52 in signaling and disease. *Trends Endocrinol Metab*. 22 (12), 481-90.

- 328) Stubbs, B., De Hert, M., Sepehry, A.A., Correll, C.U., Mitchell, A.J., Soundy, A., et al., 2014. A metaanalysis of prevalence estimates and moderators of low bone mass in people with schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand.*130(6), 470-86.
- 329) Stubbs, B., Gaughran, F., Mitchell, A.J., De Hert, M., Farmer, R., Soundy, A., Rosenbaum, S., Vancampfort, D., 2015. Schizophrenia and the risk of fractures: a systematic review and comparative meta-analysis. *Gen Hosp Psychiatry* 37(2), 126-33.
- 330) Sucheki, D., Nelson, D., Van, Oers. H., et al., 1995. Activation and inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the neonatal rat: effects of maternal deprivation. *Psychoneuroendocrinology* 20, 169-82.
- 331) Sullivan, P.F., Kendler, K.S., Neale, M.C., 2003. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 60, 1187-92.
- 332) Sweep, C.G., Boersma, C.J., Wiegant, V.M., 1990. Effects of chronic treatment with haloperidol and bromocriptine on the processing of beta-endorphin to gammaand alpha-endorphin in discrete regions of the rat pituitary gland and brain. *Neuropharmacology* 29, 61–68.
- 333) Szymańska, M., Budziszewska, B., Jaworska-Feil, L., Basta-Kaim, A., Kubera, M., Leśkiewicz, M., Regulska, M., Lasoń, W., 2009a. The effect of antidepressant drugs on the HPA axis activity, glucocorticoid receptor level and FKBP51 concentration in prenatally stressed rats. *Psychoneuroendocrinology* 34, 822-832.
- 334) Szymańska, M., Suska, A., Budziszewska, B., Jaworska-Feil, L., Basta-Kaim, A., Leśkiewicz, M., Kubera, M., Gergont, A., Krocza, S., Kaciński, M., Lasoń, W., 2009b. Prenatal stress decreases glycogen synthase kinase-3 phosphorylation in the rat frontal cortex. *Pharmacol. Rep.* 61, 612-620.
- 335) Takahashi, T., Uchida, H., John, M., Hirano, J., Watanabe, K., Mimura, M., et al., 2013. The impact of prolactin-raising antipsychotics on bone mineral density in patients with schizophrenia: findings from a longitudinal observational cohort. *Schizophr Res.*147, 383-386.
- 336) Tamminga, C.A., 1998. Schizophrenia and glutamatergic transmission. *Crit. Rev. Neurobiol.* 12, 21-36.
- 337) Tandon, R., Belmaker, R.H., Gattaz, W.F., Lopez-Ibor, J.J., Okasha, A., Singh, B., Stein, D.J., Olie, J.P., Fleischhacker, W.W., Moeller, H.J., 2008. World

- Psychiatric Association Pharmacopsychiatry Section statement on comparative effectiveness of antipsychotics in the treatment of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 100, 20-38.
- 338) Tandon, R., Mazzara, C., DeQuardo, J., et al, 1991. Dexamethasone suppression test in schizophrenia: relationship to symptomatology, ventricular enlargement, and outcome. *Biological Psychiatry*, 29, 953-964.
- 339) Tandon, R., Nasrallah, H.A., Keshavan, M.S., 2010. Schizophrenia, "just the facts" 5. Treatment and prevention. Past, present, and future. *Schizophr Res.* 122 (1-3), 1-23.
- 340) Tarbox, S.I., Pogue-Geile, M.F., 2008. Development of social functioning in preschizophrenia children and adolescents: a systematic review. *Psychol Bull* 134, 561-83.
- 341) Tarricone, I., Casoria, M., Gozzi, B.F., Grieco, D., Menchetti, M., Serretti, A., Ujkaj, M., Pastorelli, F., Berardi, D., 2006. Metabolic risk factor profile associated with use of second generation antipsychotics: a cross sectional study in a Community Mental Health Centre. *BMC Psychiatry* 16, 6-11.
- 342) Taylor, D.M., Mc Askill, R., 2000. Atypical antipsychotics and weight gain-a systematic review. *Acta Psychiatr Scand.*101, 416-32.
- 343) Terry, A.V. Jr, Gearhart, D.A., Mahadik, S.P., Warsi, S., Davis, L.W., Waller, J.L., 2005. Chronic exposure to typical or atypical antipsychotics in rodents: temporal effects on central alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Neuroscience* 136 (2), 519-529.
- 344) Terry, A.V., Gearhart, D.A., Warner, S.E., Zhang, G., Bartlett, M.G., Middlemore, M., Beck, W.D. Jr, Mahadik, S.P., Waller, J.L., 2007. Oral haloperidol or risperidone treatment in rats: temporal effects on nerve growth factor receptors, cholinergic neurons, and memory performance. *Neuroscience* 146 (3), 1316-1332.
- 345) Theodoropoulou, S., Spanakos, G., Baxevanis, C.N., Economou, M., Gritzapis, A.D., Papamichail, M.P. et al., 2001. Cytokine serum levels, autologous mixed lymphocyte reaction and surface marker analysis in never medicated and chronically medicated schizophrenic patients. *Schizophr Res* 47, 13-25.
- 346) Tilders, F.J., DeRijk, R.H., Van Dam, A.M., Vincent, V.A., Schotanus, K., Persoons, J.H., 1994. Activation of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis by

- bacterial endotoxins: routes and intermediate signals. *Psychoneuroendocrinology* 19, 209-232.
- 347) Tsai, G., Coyle, J.T., 2002. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 42, 165–179.
- 348) Tsai, G., Passani, L.A., Slusher, B.S., Carter, R., Baer, L., Kleinman, J.E., Coyle, J.T., 1995. Abnormal excitatory neurotransmitter metabolism in schizophrenic brains. *Arch Gen Psychiatry.* 52 (10), 829-836.
- 349) Tseng, P.T., Chen, Y.W., Yeh, P.Y., Tu, K.Y., Cheng, Y.S., Wu, C.K., 2015. Bone Mineral Density in Schizophrenia: An Update of Current Meta-Analysis and Literature Review Under Guideline of PRISMA. *Medicine (Baltimore)* 94(47), e1967.
- 350) Turnbull, A.V., Rivier, C.L., 1999. Regulation of the hypothalamic–pituitary adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 79, 1-71.
- 351) Tuunainen, A., Wahlbeck, K., Gilbody, S., 2002. Newer atypical antipsychotic medication in comparison to clozapine: a systematic review of randomized trials. *Schizophr Res.* 56 (1-2), 1-10.
- 352) Van Os, J., Kapur, S., 2009. Schizophrenia. *Lancet* 374, 635-45.
- 353) Van Venrooij, J.A., Fluitman, S.B., Lijmer, J.G., Kavelaars, A., Heijnen, C.J., Westenberg, H.G., et al., 2012. Impaired Neuroendocrine and Immune Response to Acute Stress in Medication-Naïve Patients With a First Episode of Psychosis. *Schizophr Bull.* 38(2), 272-9.
- 354) Van Winkel, R., Stefanis, N.C., Myin-Germeys, I., 2008. Psychosocial stress and psychosis. A review of the neurobiological mechanisms and the evidence for gene-stress interaction. *Schizophr Bull.* 34, 1095-1105.
- 355) Varese, F., Smeets, F., Drukker, M., et al., 2012. Childhood adversities increase the risk of psychosis: a meta-analysis of patient-control, prospective- and cross-sectional cohort studies. *Schizophr Bull* 38, 661-71.
- 356) Vassos, E., Pedersen, C.B., Murray, R.M., Collier, D.A., Lewis, C.M., 2012. Meta-analysis of the association of urbanicity with schizophrenia. *Schizophr Bull* 38, 1118-23.

- 357) Vita, A., De Peri, L., Silenzi, C., Dieci, M., 2006. Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. *Schizophr. Res.* 82, 75-88.
- 358) Volpato, A.M., Zugno, A.I., Quevedo, J., 2013. Recent evidence and potential mechanisms underlying weight gain and insulin resistance due to atypical antipsychotics. *Rev Bras Psiquiatr.* 35 (3), 295-304.
- 359) Von Wilmsdorff, M., Bouvier, M.L., Henning, U., Schmitt, A., Schneider-Axmann, T., Gaebel, W., 2014. Sex-dependent metabolic alterations of rat liver after 12-week exposition to haloperidol or clozapine. *Horm Metab Res.* 46(11), 782-8.
- 360) Walker, E. F., & Diforio, D., 1997. Schizophrenia: A neural diathesis-stress model. *Psychological Review*, 104(4), 667-685.
- 361) Walker, E., Mittal, V., Tessner, K., 2008. Stress and the hypothalamic pituitary adrenal axis in the developmental course of schizophrenia. *Annu Rev Clin Psychol.* 4, 189-216.
- 362) Walterfang, M., Wood, A.G., Reutens, D.C., Wood, S.J., Chen, J., Velakoulis, D., McGorry, P.D., Pantelis, C., 2008a. Morphology of the corpus callosum at different stages of schizophrenia: cross-sectional study in first-episode and chronic illness. *Br. J. Psychiatry* 192, 429-434.
- 363) Walterfang, M., Yung, A., Wood, A.G., Reutens, D.C., Phillips, L., Wood, S.J., Chen, J., Velakoulis, D., McGorry, P.D., Pantelis, C., 2008b. Corpus callosum shape alterations in individuals prior to the onset of psychosis. *Schizophr. Res.* 103, 1-10.
- 364) Wang, C., McInnis, J., Ross-Sanchez, M., Shinnick-Gallagher, P., Wiley, J.L., Johnson, K.M., 2001. Long-term behavioral and neurodegenerative effects of perinatal phencyclidine administration: implications for schizophrenia. *Neuroscience* 107, 535-550.
- 365) Wang, C., McInnis, J., West, J.B., Bao, J., Anastasio, N., Guidry, J.A., et al., 2003. Blockade of phencyclidine induced cortical apoptosis and deficits in pre pulse inhibition by M40403, a superoxide dismutase mimetic. *J Pharmacol Exp Ther.* 304, 266-71.

- 366) Wang, C.Z., Johnson, K.M., 2005. Differential effects of acute and subchronic administration on phencyclidine-induced neurodegeneration in the perinatal rat. *J Neurosci Res* 81, 284-92.
- 367) Wang, C.Z., Johnson, K.M., 2007. The role of caspase-3 activation in phencyclidine induced neuronal death in postnatal rats. *Neuropsychopharmacology* 32, 1178-94.
- 368) Wang, Z., Chen, W., Kono, E., Dang, T., Garabedian, M.J., 2007. Modulation of glucocorticoid receptor phosphorylation and transcriptional activity by a C-terminal-associated protein phosphatase. *Molecular Endocrinology* 21, 625–634.
- 369) Wang, Z., Frederick, J., Garabedian, M.J., 2002. Deciphering the phosphorylation code of the glucocorticoid receptor in vivo. *Journal of Biological Chemistry* 277, 26573–26580.
- 370) Watanabe, J., Suzuki, Y., Sugai, T., Fukui, N., Ono, S., Tsuneyama, N., et al., 2012. The lipid profiles in Japanese patients with schizophrenia treated with antipsychotic agents. *Gen Hosp Psychiatry*. 34(5), 525-8.
- 371) Waterhouse, R.N., 2003. Imaging the PCP site of the NMDA ion channel. *Nucl Med Biol*. Nov 30(8), 869-78.
- 372) Watling, K.J., Beer, M.S., Stanton, J.A., Newberry, N.R., 1990. Interaction of the atypical neuroleptic clozapine with 5-HT<sub>3</sub> receptors in the cerebral cortex and superior cervical ganglion of the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 182, 465-472.
- 373) Webster, M. J., O'Grady, J., Orthmann, C., et al, 2000. Decreased glucocorticoid receptor mRNA levels in individuals with depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Schizophrenia Research* 41, 111.
- 374) Webster, M.J., Knable, M.B., O'Grady, J., Orthmann, J., Weickert, C.S., 2002. Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. *Mol. Psychiatry* 7, 985-994.
- 375) Weigmann, H., Hartter, S., Fischer, V., Dahmen, N., Hiemke, C., 1999. Distribution of clozapine and desmethylclozapine between blood and brain in rats. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 9, 253-256.
- 376) Weinberger, D.R., 1987. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 44, 660-669.

- 377) Weinberger, D.R., 1988. Schizophrenia and the frontal lobe. *Trends Neurosci.* 11 (8), 367-370.
- 378) Welham, J., Isohanni, M., Jones, P., McGrath, J., 2009. The antecedents of schizophrenia: a review of birth cohort studies. *Schizophr Bull* 35, 603-23.
- 379) Weschenfelder, J., Sander, C., Kluge, M., Kirkby, K.C. & Himmerich, H., 2012. The influence of cytokines on wakefulness regulation: clinical relevance, mechanisms and methodological problems. *Psychiatr Danub* 24, 112-26.
- 380) Willner, P., 1984. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)*.83(1), 1-16.
- 381) Wochnik, G.M., Ruegg, J., Abel, G.A., Schmidt, U., Holsboer, F., Rein, T., 2005. FK506-binding Proteins 51 and 52 Differentially Regulate Dynein Interaction and Nuclear Translocation of the Glucocorticoid Receptor in Mammalian Cells. *J Biol Chem.* 280, 4609-4616.
- 382) Wolkin, A., Jaeger, J., Brodie, J.D., Wolf, A.P., Fowler, J., Rotrosen, J., et al., 1985. Persistence of cerebral metabolic abnormalities in chronic schizophrenia as determined by positron emission tomography. *Am J Psychiatry* 142, 564-571.
- 383) Woodberry, K.A., Giuliano, A.J., Seidman, L.J., 2008. Premorbid IQ in schizophrenia: a meta-analytic review. *Am J Psychiatry* 165, 579-87.
- 384) Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M., Bullmore, E.T., 2000. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 157, 16-25.
- 385) Wu, H., Deng, L., Zhao, L., Zhao, J., Li, L., Chen, J., 2013. Osteoporosis associated with antipsychotic treatment in schizophrenia. *Int J Endocrinol.* 2013, 167138.
- 386) Xu, H.M., Wei, J. & Hemmings, G.P., 1994. Changes of plasma concentrations of interleukin-1 alpha and interleukin-6 with neuroleptic treatment for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 164, 251-53.
- 387) Yeap, S., Thakore, J.H., 2005. Stress axis dysfunction in schizophrenia. *Eur Psychiatry. Suppl* 3, S307-12.
- 388) Yeragani, V.K., 1990. The incidence of abnormal dexamethasone suppression in schizophrenia: a review and a meta-analytic comparison with the incidence in normal controls. *Can. J. Psychiatry* 35, 128–132.

- 389) Zammit, S., Allebeck, P., David, A.S., et al., 2004. A longitudinal study of premorbid IQ score and risk of developing schizophrenia, bipolar disorder, severe depression, and other nonaffective psychoses. *Arch Gen Psychiatry* 61, 354-60.
- 390) Zhang, X.Y., Zhou, D.F., Cao, L.Y., Wu, G.Y., Shen, Y.C., 2005. Cortisol and cytokines in chronic and treatment-resistant patients with schizophrenia: association with psychopathology and response to antipsychotics. *Neuropsychopharmacology*. 30, 1532-1538.
- 391) Zhang, X.Y., Zhou, D.F., Zhang, P.Y., Wu, G.Y., Cao, L.Y. & Shen, Y.C., 2002. Elevated interleukin-2, interleukin-6 and interleukin-8 serum levels in neuroleptic-free schizophrenia: association with psychopathology. *Schizophr Res* 57, 247-58.
- 392) Zhou, Z., Hong, E.J., Cohen, S., Zhao, W.-N., Ho, H.-Y.H., Schmidt, L., Chen, W.G., Lin, Y., Savner, E., Griffith, E.C., Hu, L., et al., 2006. Brain-specific phosphorylation of MeCP2 regulates activity-dependent Bdnf transcription, dendritic growth, and spine maturation. *Neuron*. 52, 255-269.
- 393) Zorn, J.V., Schür, R.R., Boks, M.P., Kahn, R.S., Joëls, M., Vinkers, C.H., 2017. Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. Mar;77:25-36.
- 394) Zubin, J., Spring, B., 1977. Vulnerability-a new view of schizophrenia. *J Abnorm Psychol* 86, 103-126.



## СПИСАК СКРАЋЕНИЦА

- 11 $\beta$ -HSD1 - *11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase* - 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza
- 5HT - Serotoninski receptori
- ACTH - *Adrenocorticotrophic hormone* - Adrenokortikotropni hormon
- ANOVA - Jednofaktorska analiza varijanse
- ATP - Adenozin trifosfat
- BMC - *Bone mineral content* - Mineralni sadržaj kostiju
- BMD - *Bone mineral density* - Mineralna koštana gustina
- BMI - *Body mass index* - Indeks telesne mase
- Ca<sup>2+</sup> - Jon kalcijuma
- COMT - *Catechol-O-methyltransferase* - Katehol-ometil transferaza
- CRH - *Corticotrophin releasing hormone* – Kortikotropni oslobađajući hormon
- D1, D2 и D4 - Tipovi dopaminskih receptora
- DAAO - *D-amino acid oxidase* - Oksidaza D-amino kiseline
- DNK - Dezoksiribonukleinska kiselina
- DTNBP1 - *Dysbindin, dystrobrevin-binding protein 1* - Disbindin
- DXA - *Dual energy X-ray absorptiometry* - Dvostruka apsorpciometrija X-zraka
- FKBP51 - *FK506-binding protein 51* - FK506-vezujuћи протеин 51
- FSH - *Follicle-stimulating hormone* - Folikulo stimulirajući hormon
- GnRH - *Gonadotropin-releasing hormone* - Gonadotropin-oslobađajući hormon
- GR - *Glucocorticoid receptor* - Glukokortikoidni receptor
- GREs - *GC response elements*
- H - Haloperidol
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Vodonik peroksid
- HPA - *Hypothalamic-pituitary-adrenal* - Hipotalamo-hipofizno-adrenalna
- HSP - *Heat shock proteins* - Proteini toplotnog šoka
- i.p - Intraperitonealno
- IL - Interleukin
- iRNK - Informaciona ribonukleinska kiselina
- K - Klozapin

K<sup>+</sup> - Jon kalijuma  
LH - *Luteinizing hormone* - Luteinizirajući hormon  
Mg<sup>2+</sup> - Jon magnezijuma  
MR - *Mineralocorticoid receptor* - Mineralokortikoidni receptor  
Na<sup>+</sup> - Jon natrijuma  
NaCl - Natrijum hlorid  
NADPH - Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat  
NMDA - *N-methyl-D-aspartate* - N-metil-D-aspartat  
Nrg1 – *Neuregulin 1* - Neuregulin  
PCP - *Phencyclidine* - Фенциклидин  
PE - Periepididimalno  
pGR - *Phospho glucocorticoid receptor* - Fosfo-glukokortikoidni receptor  
PN - *Postnatal* - Postnatalni  
PPI - Prepulsna inhibicija  
PR - *Prolactin-raising*  
PS - *Prolactin-sparing*  
RGS4 - *Regulator of G protein signaling 4* - Regulator G protein signala-4  
RP - Retroperitonealno  
s.c. - *Subcutaneous* - Subkutano  
SCH - *Schizophrenia* - Shizofrenija  
SD - *Standard deviation* - Standardna devijacija  
sIL-6R - Solubilni interleukin-6 receptor  
TNF-α - Faktor nekroze tumora-alfa  
Zn<sup>2+</sup> - Jon cinka

## БИОГРАФИЈА

Др Татјана Николић рођена је 18. маја 1981. у Нишу. У свом родном граду завршила је основну школу и Гимназију „Бора Станковић“ са одличним успехом. Медицински факултет у Нишу уписала је 2000. године, а дипломирала 2007. године са просечном оценом 9.16. Још као студент др Николић је учествовала у научно-истраживачком раду из чега су произашли радови презентовани на студентским конгресима у земљи. Др Николић је 2008. године уписала докторске студије - смер Молекуларна медицина на Медицинском факултету у Нишу, а од 2009. године је наставила студије на Медицинском факултету у Београду. Била је стипендиста Министарства за науку и технолошки развој током докторских студија.

Од априла 2009. године запослена је на Институту за медицинску и клиничку биохемију, Медицинског факултета Универзитета у Београду као сарадник у настави, а од 2011. године изабрана је у звање асистента за ужу научну област Биохемија.

Специјалистички испит из Клиничке биохемије положила је јануара 2015. године на Медицинском факултету у Београду са одличним успехом.

У периоду од 2009-2010. др Николић је сарадник на пројекту Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије бр. 145058 “Молекуларни механизми регулације ћелијске смрти у физиолошким и патолошким условима“. Такође, од 2011. је сарадник на пројекту Министарства за науку и технолошки развој бр. 175058 „Структурне и биохемијске карактеристике поремећаја синаптичке пластичности у психијатријским обољењима“.

Др Николић је аутор и коаутор бројних научно истраживачких радова од којих је 13 публиковано у часописима који су са JCR листе. До сада је излагала своје радове на бројним међународним, као и домаћим конгресима и скуповима из области неуронаука и психијатрије. Такође је коаутор у 1 практикуму и 2 приручника. Ментор је више студентских радова.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Tatjana Nikolić

broj upisa 5164/2017

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**Uticaj antipsihotika na koštano tkivo i hipotalamo-hipofizno-adrenalnu osovину u fenciklidinskom animalnom modelu shizofrenije**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 17.05.2018.

Tatjana Nikolić

Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Tatjana Nikolić

Broj upisa: 5164/2017

Studijski program: Doktorske studije – smer Molekularna medicina

Naslov rada: Uticaj antipsihotika na koštano tkivo i hipotalamo-hipofizno-adrenalnu osovину u fenciklidinskom animalnom modelu shizofrenije

Mentor : Prof. dr Nataša Petronijević

Potpisana Tatjana Nikolić

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 17. 05. 2018.

Tatjana Niković

**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Uticaj antipsihotika na koštano tkivo i hipotalamo-hipofizno-adrenalnu osovину u fenciklidinskom animalnom modelu shizofrenije**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 17.05.2018.

Tripanjana Hukonut

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.