



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Мирослав Д. Митровић

**Утицај протеинске дијете са или без омега-3 масних киселина
на развој неалкохолне масне дегенерације јетре пацова
индуковане оланзапином**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2021.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Miroslav D. Mitrović

**Uticaj proteinske dijeta sa ili bez omega-3 masnih kiselina
na razvoj nealkoholne masne degeneracije jetre pacova
indukovane olanzapinom**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2021.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Miroslav D. Mitrovic

**Influence of protein diet with or without omega-3 fatty acids
on the development of non-alcoholic fatty degeneration of
olanzapine-induced rat liver**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2021.

Аутор
Име и презиме: Мирослав Д. Митровић
Датум и место рођења: 23.12.1967.
Садашње запослење: Фарманова, Пивљанина Баје 1, 11000 Београд
Докторска дисертација
Наслов: Утицај протеинске дијете са или без омега-3 масних киселина на развој неалкохолне масне дегенерације јетре пацова индуковане оланзапином
Број страница: 187
Број слика: 37 слика, 48 табела, 25 графикона
Број библиографских података: 406
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицина
Ментор: Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 12.12.2017.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-1119/39 дана 06.12.2017.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник 2. Проф. др Драгана Игњатовић Ристић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Психијатрија, члан 3. Проф. др Слободанка Митровић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан 4. Доц. др Драган Васиљевић, доцент професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена и екологија, члан 5. Др сци. Весна Вучић, научни саветник Центра изузетних вредности за истраживања исхране и метаболизма Института за медицинска истраживања у Београду, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације:
<ol style="list-style-type: none"> 1. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 2. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 3. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 4. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 5. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета
Датум одбране дисертације:

Autor
Ime i prezime: Miroslav D. Mitrović
Datum i mesto rođenja: 23.12.1967.
Sadašnje zaposlenje: Farmanova, Pivljanina Baje 1, 11000 Beograd
Doktorska disertacija
Naslov: Uticaj proteinske dijeta sa ili bez omega-3 masnih kiselina na razvoj nealkoholne masne degeneracije jetre pacova indukovane olanzapinom
Broj stranica: 187
Broj slika: 37 slika, 48 tabela, 25 grafiona
Broj bibliografski podataka: 406
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Naučna oblast (UDK): Medicina
Mentor: Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija
Ocena I odbrana
Datum prijave teme: 12.12.2017.
Broj odluke I datum prihvatanja teme doktorske disertacije: IV-03-1119/39 dana 06.12.2017.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenost uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. dr Dragan Milovanović, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Farmakologija i toksikologija, predsednik 2. Prof. dr Dragana Ignjatović Ristić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Psihijatrija, član 3. Prof. dr Slobodanka Mitrović, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Patološka anatomija, član 4. Doc. dr Dragan Vasiljević, docent profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Higijena i ekologija, član 5. Dr sci. Vesna Vučić, naučni savetnik Centra izuzetnih vrednosti za istraživanja ishrane i metabolizma Instituta za medicinska istraživanja u Beogradu, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacija: <ol style="list-style-type: none"> 1. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 2. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 3. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 4. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 5. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta
Datum odbrane disertacije

Author
Name and surname: Miroslav D. Mitrovic
Date and place of birth: 23.12.1967.
Current employment: Pharmanova, Pivljanina Baje 1, 11000 Belgrade
Doctoral Dissertation
Title: Influence of protein diet with or without omega-3 fatty acids on the development of non-alcoholic fatty degeneration of olanzapine-induced rat liver
No. of pages: 187
No. of images: 37 pictures, 48 tables, 25 figures
No. of bibliographic data: 406
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Scientific area (UDK): Medicine
Mentor: Prof. dr Vladimir Jakovljević, full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrow scientific field of Physiology
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 12.12.2017.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: IV-03-1119/39 from 06.12.2017.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. Dr. Dragan Milovanović, full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrower scientific field of Pharmacology and Toxicology, President 2. Prof. Dr. Dragana Ignjatović Ristić, full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrower scientific field of Psychiatry, member 3. Ass. Prof. Dr. Slobodanka Mitrović, Associate Professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrower scientific field of Pathological Anatomy, member 4. Ass. Prof. Dr. Dragan Vasiljevic, Assistant Professor Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrower scientific field of Hygiene and Ecology, member 5. Dr. sci. Vesna Vučić, Scientific Adviser of the Center of Excellence for Nutrition and Metabolism Research of the Institute for Medical Research in Belgrade, member
Commission for evaluation and defense of doctoral:
<ol style="list-style-type: none"> 1. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 2. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 3. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 4. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 5. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university
Date of Dissertation Defense:

Захваљујем се својој породици и својим пријатељима.

САЖЕТАК

У свету али и код нас терапија антипсихотицима је терапија избора у повећању квалитета живота пацијената са менталним поремећајима који због својих позитивних особина да скоро не изазивају екстрапирамидални синдром. Оксидативни стрес има важну улогу у патофизиологији психијатријских поремећаја. Циљ истраживања је био испитати утицај хроничне примене оланзапина на настанак неалкохолне масне болести јетре пацова који су на хроничној протеинској исхрани са или без омега 3 масних киселина. Експериментална студија на животињама *Wistar albino* соја (n=96; старост 8 недеља, 200 ± 20 g) *in vivo* и *in vitro* подељених у 8 група у односу на дијетални режим и фармаколошки третман.

Након фармаколошког и дијеталног третмана од 6 недеља, животиње се жртвују при чему би се спровела патохистолошка и биохемијска испитивања. За визуелизацију структура у хистолошким секцијама употребљавало се *H&E*, *Masson trichrome* бојења за утврђивање обима морфолошких и хистолошких промена и квантификацију портне инфламације, броја *Kupffer*-ових ћелија, фокалне некрозе хепатоцита и микро и макровезикуларних масних промена јетре. У хомогенату ткива и крви животиње одређивани су се следећи параметри: Параметри редокс равнотеже (супероксид анјон радикал O₂⁻, водоник пероксид H₂O₂, индекс липидне пероксидације TBARS, нитрити NO₂⁻); каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH) и рутинске биохемијске анализе.

Оланзапин доводи до развоја неалкохолне масне јетре и повећања укупног скорa некроинфламаторне активности у јетри. Анализом биохемијских параметара, утврђено је да оланзапин доводи до повећања вредности гликемије, холестерола, ензима јетре (АСТ и АЛТ), док није евидентиран значајан утицај лека на ЛДЛ холестерол, триглицериде, ХДЛ холестерол и ензиме јетре гама-ГТ и укупне билирубине.

Оланзапин поседује снажан оксидациони потенцијал и утицај на раст оксидативних слободних радикала. Промене су окарактерисане као развој токсичног хепатитиса услед хроничне примене лека.

КЉУЧНЕ РЕЧИ: оланзапин, протеини сурутке, омега-3 масне киселине, неалкохолна масна јетра, оксидациони стрес

ABSTRACT

In the world, but also in our country, antipsychotic therapy is the therapy of choice in increasing the quality of life of patients with mental disorders who, due to their positive properties, almost do not cause extrapyramidal syndrome. Oxidative stress plays an important role in the pathophysiology of psychiatric disorders. The aim of the study was to examine the effect of chronic olanzapine administration on the development of non - alcoholic fatty liver disease in rats on a chronic protein diet with or without omega 3 fatty acids. This was an experimental study in animals of *Wistar albino* strain (n = 96; age 8 weeks, 200 ± 20 g) *in vivo* and *in vitro* divided into 8 groups according to diet and pharmacological treatment.

After 6 weeks of pharmacological and dietary treatment, the animals were sacrificed and pathohistological and biochemical tests are performed. For visualization of structures in histological sections, H&E, Masson trichrome staining were used to determine the extent of morphological and histological changes and quantification of portal inflammation, Kupffer cell number, focal hepatocyte necrosis, and micro and macro-vesicular fatty changes of the liver. The following parameters were determined in the homogenate of animal tissue and blood: Redox equilibrium parameters (superoxide anion radical O₂⁻, hydrogen peroxide H₂O₂, lipid peroxidation index TBARS, nitrites NO₂⁻); catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and reduced glutathione (GSH) and routine biochemical analyzes.

Olanzapine leads to the development of non-alcoholic fatty liver and an increase in the overall score of necro-inflammatory activity in the liver. Analysis of biochemical parameters revealed that olanzapine leads to an increase in glycemia, cholesterol, liver enzymes (AST and ALT), while no significant effect of the drug on LDL cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and liver enzymes gamma-GT and total bilirubin was recorded.

Olanzapine has a strong oxidative potential and influence on the growth of oxidative free radicals. The changes were characterized as the development of toxic hepatitis due to chronic drug administration.

Key words: olanzapine, whey proteins, omega-3 fatty acids, non-alcoholic fatty liver, oxidative stress

САДРЖАЈ

УВОД.....	4
1.1. Антипсихотички лекови	4
1.2. Механизам деловања атипичних антипсихотика.....	6
1.3. Класификација антипсихотичких лекова.....	10
1.4. Нежељена дејства примене типичних и атипичних антипсихотика.....	11
1.5. Оланзапин	13
1.6. Индикације и начин дозирања лека оланзапин.....	14
1.7. Интеракције мере опреза услед примене оланзапина.....	15
1.8. Нежељена дејства лека оланзапин наведена у сажетку карактеристика лека.....	16
1.9. Контраиндикације за примену оланзапина.....	17
1.10. Кардиометаболичке болести код оболелих од психоза и терапија са оланзапином.....	18
1.11. Епидемиолошки подаци.....	19
1.12. Кардиометаболичке компликације примене антипсихотика.....	20
1.13. Оланзапин и кардиометаболичке компликације	21
1.14. Механизми настанка кардиовакуларних компликација са оланзапином.....	22
1.15. Дијабетес и оланзапин.....	24
1.16. Метаболички синдром и оланзапин.....	25
1.17. Оланзапин и оксидативни стрес.....	27
1.18. Биохемијске анализе и оланзапин.....	29
1.19. Кардиометаболички надзор код пацијената са оланзапином.....	29
1.20. Неалкохолна масна дегенерација јетре (NAFLD).....	30
1.21. Дијагностички критеријуми.....	31
1.22. НАФЛД и антипсихотички лекови	33
1.23. Омега масне киселине	34
1.24. Значај омега 3 масних киселина и њихово протективно деловање.....	35
1.25. Препоручени унос омега 3 масних киселина и индикациона подручја.....	36
1.26. Омега масне киселине и психијатријска обољења.....	37
1.27. Оксидациони стрес и омега 3 масне киселине.....	38
1.28. Омега 3 масне киселине и антипсихотички лекови	39
1.29. Протеини сурутке	40
1.30. Здравствени бенефити протеина сурутке.....	44
1.31. Протеини сурутке и схизофренија.....	45
1.32. Оланзапин и примена протеина сурутке.....	48
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА.....	51
2.1. Општи циљ.....	51
2.2. Специфични циљеви.....	51
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД.....	53
3.1. Дизајн истраживања.....	53
3.2. Анимални модел.....	53
3.3. Протокол истраживања.....	54
3.4. Морфометријска и патохистолошка испитивања	54
3.4.1. Н&Е метода бојења	55
3.4.2. Имунохистохемијски метод бојења.....	56
3.5. Процена нехроинфламаторне активности	57
3.6. Процена масне дегенерације	58
3.7. Процена балонирајуће дегенерације	59
3.8. Процена интралобуларних промена.....	60
3.9. Процена фиброзних промена	66

3.10.	Биохемијска испитивања.....	70
3.11.	Статистичка обрада података	71
4.	РЕЗУЛТАТИ	73
4.1.	Телесна тежина пацова током експерименталног периода.....	73
4.2.	Телесна тежина пацова приказана по недељама трајања експеримента (прва до шесте недеље).....	74
4.3.	Прираст телесне масе у односу на групу	81
4.4.	Утицај различитих третмана на промену вредности гликемије, ензима јетре и липопротеина у серуму пацова	82
4.4.1.	Гликемија	82
4.4.2.	Укупни холестерол.....	83
4.4.3.	Триглицериди.....	84
4.4.4.	Липопротеини високе густине	85
4.4.5.	Липопротеини мале густине.....	86
4.4.6.	Аспаргат аминотрансфераза.....	87
4.4.7.	Аланин аминотрансфераза.....	88
4.4.8.	Укупни билирубин	89
4.4.9.	Гама-глутамил трансфераза.....	90
4.4.10.	Анализа промена биохемијских маркера у односу са фармаколошки третман и дијетални режим	91
4.5.	Утицај различитих третмана на промену вредности про-оксидационих маркера у плазми пацова	94
4.5.1.	Вредности супероксид анјон радикала.....	94
4.5.2.	Концентрација водоник пероксида.....	95
4.5.3.	Биорасположивост азот монооксида	96
4.5.4.	Концентрација индекса липидне пероксидације (TBARS)	97
4.6.	Утицај различитих третмана на промену вредности активности антиоксидационих ензима у хемолизату крви пацова	98
4.6.1.	Активност ензима супероксид дисмутазе.....	98
4.6.2.	Активност редукованог глутатиона.....	99
4.6.3.	Активност ензима каталазе.....	100
4.6.4.	Статистички значајне промене вредности редокс маркера у плазми пацова услед различитих третмана	101
4.7.	Патохистолошка анализа ткива јетре пацова у различитим режимима исхране са или без фармаколошког третмана	102
4.8.	Финала процена некроинфламаторне активности лека.....	117
4.9.	Репрезентативни пресеци ткива јетре и приказ некроинфламаторне активности на основу добијених НИА скор вредности	120
5.	ДИСКУСИЈА.....	134
5.1.	Анализа утицаја временски дефинисане примене оланзапина на настанак и развој не-алкохолне масне болести јетре пацова	134
5.2.	Утицај оланзапина самостално или у комбинацији са протеинима сурутке, самостално или у комбинацији са омега масним киселинама на вредности телесне тежине	135
5.3.	Утицај протеина сурутке на вредности биохемијских параметара.....	138
5.4.	Утицај различитих третмана на промену вредности редокс маркера у плазми пацова	150
5.5.	ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА ТКИВА ЈЕТРЕ ПАЦОВА.....	155
6.	ЗАКЉУЧЦИ.....	158
7.	ЛИТЕРАТУРА	162

УВОД

1. УВОД

1.1. Антипсихотички лекови

Антипсихотици чине групу лекова који су намењени лечењу психоза и психотичких стања, маничних фаза биполарног поремећаја, неких форми депресивних поремећаја, као и у одређених форми поремећаја понашања. Психозе су душевне болести углавном непознате етиологије, са специфичним психопатолошким садржајем у којем доминира неколико група симптома, а болесник делимично или потпуно губи контакт са реалношћу. Узроци могу бити различити, па се психозе класификују у три групе (1) ¹:

- функционалне психозе као шизифренија и манија, чији узроци су непознати;
- органске психозе су последице оштећења мозга повредама и болестима, а
- токсичне психозе настају код оштећења отровима, дрогама или лековима.

Када говоримо о психозама, њихово лечење је обележио велики број терапијских промена и приступа у последњих стотинак година, као и лутање у креирању хипотеза везаних за узроке настанка истих. Развој лекова намењених терапији психоза је доста доследно пратио истраживачка достигнућа везана та проналажење узрочно последичне везе између доказа о настанку психоза на биолошком нивоу као и могућности њиховог лечења. Употребу антипсихотичких лекова карактеришу докази о јасним терапијским користима који проистичу из њихове примене, али и плаћање данка везаних за последице њихове дуготрајне примене, често и доживотне.

Антипсихотици нису једноставни лекови. По правилу карактерише их мултипотентност рецепторног деловања. Сама чињеница да су се први антипсихотици примарно развијали као антихистаминци, указује на потенцијално широко рецепторно деловање ових лекова (1,2). Заправо, ефикасност антипсихотика је последица деловања лека на различитим, вишеструко активним рецепторним местима на циљаном органу (допаманинска, серотонинска, мускаринска, хистаминска, катехоламинска, ...). Јасно је да је ефикасно лећење сложених неуропсихијатријских болести као што је шизофренија или друге форме психоза, захтева приступ који иде даље од концепта „чаробног метка“ и деловању лекова на један систем или рецепторно место. Овакав концепт јесте идеалан и пожељан, али у терапији сложених психијатријских болести очигледно и недовољан, па се овакав концепт замењује концептом примене лекова са вишециљним механизмима деловања. Из историјске перспективе, овакви лекови су често дефинисани као рецепторно мултипотентни или „прљави“, али су новија истраживања и развој лекова у модерној психијатрији показала да је овакав приступ потребан и неопходан, док су се дизајн и развој нових преселили са молекуларног и ћелијског нивоа на системски оријентисан ниво који квалитетно могу да обраде суптилне догађаје који се дешавају на нивоима биолошких мрежа који доводе до развоја и настанка психијатријских болести (3,4). Јасно је да већина антипсихотика декује на више различитих рецепторних места истовремено, чиме приближавамо бољем фармакотерапијском профилу лечења комплексних обољења као што су психијатријска, а уз мањи и прихватљивији профил појаве нежељених ефеката њихове примене (5).

Примарне индикације за антипсихотике су тешке душевне болести: шизофренија, органске психозе, маничне фазе манично-депресивних психоза и неки облици депресије, али су они нашли места и у другим областима медицине. Код шизофреније најефикасније ублажавају бурне психотичке симптоме: поремећаје мишљења, халуцинације, делузије (“позитивни симптоми”), и успешно спречавају рецидиве

болести. Код апатичних болесника, повучених и интровертираних, код којих доминирају ”негативни симптоми“ ефикасност је мања. Акутни облици шизофреније се много успешније лече него хронични. Зато јесте битно да се болест заустави што раније, и да правилна терапија одржавања спречи појава разорних рецидива. Смирење узбуђених и агресивних болесника се постиже брзо по примени лека орално, или врло брзо ако се лек даје парентерално, али за антипсихотичко деловање треба да прође неколико дана до неколико недеља. Поред класичних, одобрених индикација евидентно је да је приметно експоненцијално повећање не регистрационих „*off-label*“ индикација за примену ових лекова и које обухватају лечење широког спектра психијатријских стања и болести (6). Време је показало да је потреба антипсихотичких лекова прве генерације свела на халоперидол и умерено флуфеназинске лекове и предност у прописивању и коришћењу је препуштен терапији са атипичним антипсихотикима.

Појава „атипичних“ антипсихотика је значајно променила приступ у лечењу психотичких болести и наметнула бројна питања око правог избора лека у терапији. Одлична ефикасност и одсуство карактеристичних нежељених дејстава карактеристичних за прву генерацију антипсихотика, атипичне антипсихотике је брзо довела у први план у прописивању од стране лекара у односу на типичне антипсихотике. Генеричке верзије ових лекова, довеле су до повећања доступности лекова, јер је са смањењем цене лечења одговор здравствених фондова био позитиван и велики број ових лекова се нашао на листама здравствених осигурња широм света. На примеру Републике Србије ситуација је слична као и развијеним земљама света. На листи антипсихотичних лекова који се користе у Србији доминирају атипични антипсихотизи, док је из групе типичних антипсихотика са значајнијим бројем преписаних паковања присутан значајније халоперидол. Укупни број прописаних паковања антипсихотичких лекова током 2019 године у Србији је био скоро два милиона паковања и представља значајан финансијски трошак лечења од преко четрнаест милиона еура годишње (7). Прва три места по броју прописаних антипсихотика чине два атипична и један типични антипсихотик; рисперидон, оланзапин и халоперидол.

Лек оланзапин је драматично повећао своје учешће у промету на тржишту Србије. Он чини 14 % од укупне количине коришћених антипсихотика на годишњем нивоу са приближно 280.000 паковања годишње примене (8). Може се закључити да је у Републици Србији доминантна потрошња антипсихотичких лекова везана за атипичне антипсихотике и да су они преузели примат у лечењу психијатријских психотичких обољења. Ови високо ефикасни лекови су значајно допринели квалитетнијем лечењу оболелих и ставили под контролу већину психоза, посебно шизофренију. У табели број 1 приказана је потрошња антипсихотичких лекова у паковањима у Републици Србији током 2019 године.

Табела број 1. Приказ потрошње лекова из групе антипсихотика у 2019 години у Републици Србији (8)

Србија - потрошња антипсихотика - 2019 година	Паковања	Вредност у еурима
N05A АНТИПСИХОТИЦИ	2019	2019
N05A ANTIPSYCHOTICS	1.963.820	14.400.634
N05AX08 RISPERIDONE	493.082	2.694.929
N05AH03 OLANZAPINE	277.563	3.358.684
N05AD01 HALOPERIDOL	242.387	705.968
N05AH02 CLOZAPINE	231.544	1.255.157
N05AA01 CHLORPROMAZINE	228.870	201.383
N05AL01 SULPIRIDE	171.236	416.993
N05AB02 FLUPHENAZINE	133.408	355.963
N05AX12 ARIPIRAZOLE	114.429	889.723
N05AH04 QUETIAPINE	55.144	551.135
N05AX13 PALIPERIDONE	12.190	3.879.970
N05AA02 LEVOMEPRMAZINE	3.632	83.359
N05AE04 ZIPRASIDONE	335	7.368
N05AF05 ZUCLOPENTHIXOL		
N05AL05 AMISULPRIDE		

1.2. Механизам деловања атипичних антипсихотика

Атипичност антипсихотичких лекова се огледа у томе што је задржана њихова индикациона ефикасност, али уз значајно мањи степен изражености нежељених дејстава, карактеристичних за типичне антипсихотике, као што су екстрапирамидални синдром и хиперпролактинемија са пратећим последицама. Њихов механизам деловања је комплексан и у њима доминира деловање на различите подтипове рецепторних система, не само допаминских рецептора, већ је присутно и деловање на различите подтипове серотонинских, холинергичких, мускаринских, и других рецепторних места, чиме ови лекови остварају висок степен различитости у фармакодинамском профилу, али и са и даље израженом снажним антипсихотичким деловањем. Ова специфичност је уједно и кључна разлика у односу на типичне лекове. Слично као и код типичних антипсихотика, мултипотентност рецепторног деловања је изразито присутна, па не чуди да поједини антипсихотици из ове групе могу да имају доказани ефекат на преко десетак рецепторних места, а приказ кључних рецепторних ефеката и њихових нежељених ефеката приказани су у табели број 2.

Механизам антипсихотичког дејства није до краја разјашњен. Верује се да блокирање допаминске трансмисије има кључну улогу (пре свега D₂ рецептора), поред јасне чињенице да антипсихотички лекови утичу и на холинергичке, алфа адренергичке, хистаминергичке и серотонинергичке рецепторе. Место дејства се не може прецизно одредити, али се сматра да је најважније деловање остварује на једрима у лимбичком систему у којима се формирају емоције и мишљење. Познато је да експериментално деловање амфетамина може изазвати појаву активних психотичних

напада сличних онима који се виде код пацијената оболелих од психоза, као и да лекови који блокирају деловање допамина, као што су резерпин и њему слични, доводе до смањења појаве ових симптома (9). Већина тренутно доступних антипсихотичних лекова делује блокирањем допаминских рецептора у централном нервном систему и они су типични представници класичног приступа у лечењу шизофреније, а за дефинисање овог механизма додељена је и Нобелова награда 2000 године професору Арвиду Карлсону (*Arvid Carlsson, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg*). Остаће запаћена његова девиза о допамину: „Допамин је укључен у свим свим функцијама и свим дешавањима нашег мозга“ (10). Допаминергична хипотеза о шизофренији еволуирала је од једноставне идеје о прекомерном деловању допамина, преко хипотезе која комбинује деловање допамина у делу префронталне и стријатне хиподопаминергије, па све до абрантних модалтитета дефинисаних у преко 30 различитих хипотеза (11). Улога глутаматергичног система у развоју психотичких болести је постала доминантна, тако да је постало јасно да је лечење сложених психијатријских обољења као што су психозе изузетно захтевна процедура, која подрзаумева да се у развоју лекова иде даље од концепта „магичног метка“ (12).

Из наведених разлога, логичан је развој антипсихотика од типичних ка атипичним, као и новијим генерацијама ових лекова. Познато је да су позитивни симптоми резултат прекомерне активности на мезолимбичном допаминергичном путу (неуронска пројекција из вентралног тегменталног подручја (*ventral tegmental area (VTA)*)), ка рецепторним местима у једрима; акумбенс (*nucleus accumbens*), амигдала (*nucleus amygdala*) и самом хипокампусу активирајући D₂ рецепторе. Негативни симптоми могу настати услед смањења активност у мезокортикалном допаминергичком путу (*mesocortical dopaminergic pathway*) - пројекција од вентралног тегменталног подручја на подручја префронталног кортекса где доминирају D₁ рецептори. Чини се да други допаминергички путеви у централном нервном систему (нигрострални и тубероинфундибуларни) нормално функционишу код шизофреније. Стога су јасни циљеви потребе лечења током кога је пожељно инхибирати допаминергички пренос у лимбичком систему, али појачати тај пренос у пределу префронталне коре (13).

Антагонистичка активност серотонинског 5-HT₂ а рецептора се огледа у контроли повишене активности допамина и верује се да антагонизам овог рецептора доприноси побољшању позитивних и негативних симптома шизофреније и изазивају мање екстрапирамидних нежељених ефеката од старији антипсихотици (14). 5-HT₁ а рецептор је подтип серотонинских рецептора који игра значајну улогу у модулацији активности моноаминергичних, допаминергичних неурона, а такође се може се описати као антагонистично за серотонински 5-HT₂ а рецептор, када је реч о пресинаптичкој и постсинаптичкој локализацији. Интерактивно деловање између ова два серотонинска рецептора је важно, па се сматра се да су агенси који делују као агонисти 5-HT₂ а рецептора способни да модулирају допаминергички пренос у централном нервном систему на сличан начин као антагонисти серотонинског 5-HT₂ а рецептора. Агонисти рецептора 5-HT₂ а могу и да индукују ослобађање допамина у префронталном кортексу и да појачају инхибиторни ефекат на ослобађање допамина антагониста допамин D₂ рецептора (15). Ови рецептори се сматрају пожељном метом за лечење шизофреније, с обзиром да постоје докази да стимулација рецептора серотонина 5-HT₁ а може допринети смањењу екстрапирамидних нежељених ефеката индукованих антипсихотичима и ублажавању афективних поремећаја као што су депресија или анксиозност, а такође довести и до побољшања когнитивних симптома шизофреније (16,17,18) .

Антагонизам према α 1 адренергичким рецепторима користан је за лечење позитивних симптома, посебно код акутне шизофреније, док би антагонизам на α 2 адренергичким рецепторима, карактеристичан за клозапин и донекле рисперидон, могао бити важан за ублажавање негативних симптома и когнитивних оштећења (19). Блокада α адренергичних рецептора има стабилизујући ефекат на допаминергичку неуротрансмисију код шизофреније. Супротно томе, активација α 2 адренергичних рецептора у префронталном кортексу може побољшати когнитивне функције, а има доказа да антагонизам α 2 адренергичних рецептора повећава антипсихотичку активност рисперидона и промовише кортикални допаминергични и глутаматергични, NMDA рецептор посредовани неуротрансмисија (20,21) .

Хистамински H1 рецептор је укључен у појаву раста телесне тежине, дебљање пацијената и појаве метаболичких поремећаја током примене антипсихотика који имају израженије деловање на овај тип рецептора у мозгу. Иако се ови ефекти могу делимично објаснити и блокадом адренергичних или холинергичних рецептора, антагонизам хистаминских H1 рецептора описан је као кључни разлог гојазности током примене атипичних антипсихотика изазване антипсихотицима (22). Супротно томе, хистамински рецептор H3 је нова мета нових антипсихотика, јер су се као селективни антагонисти или инверзни агонисти овог подтипа хистаминских рецептора показали ефикасни у лечењу когнитивних дефицита код шизофреније (23).

Одређена испитивања указују на централну улогу настанка шизофреније услед поремећаја у холинергичној неуротрансмисији, што је довело и до постојања холинергичке хипотезе о настанку шизофреније (24, 25).

Мускарински рецептори имају улогу у модулацији синаптичке пластичности у префронталном кортексу, а стимулација ових рецептора резултира дуготрајном депресијом у синапсама хипокампо-префронталног кортекса (26). Број мускаринских рецептора је знатно мања код пацијената са шизофренијом, док су позитивни симптоми шизофреније у негативној корелацији са доступношћу мускаринских рецептора (27). Укључивање никотинских холинергичних рецептора у патомеханизам шизофреније може донекле објаснити, зашто су пацијенти са шизофренијом често тешки пушачи. Претпоставља се да пушење донекле ублажава негативне симптоме шизофреније, па је ово једна од објашњења разлога постојања повећаног степена овисништва о никотину и пушењу дувана код оболелих од шизофреније (28). Све више доказа указује да активација α 7 никотинских рецептора од стране агониста или позитивних алостеричних модулятора може да буде прихватљива стратегија за лечење шизофреније (29).

Глутаматергичка хипотеза је настала на основу испитивања у којима је показано да антагонисти NMDA (N-метил-D-аспартата (NMDA) рецептора, попут фенциклидина или кетамина, производе позитивне, негативне и когнитивне симптоме сличне шизофренији на животињским моделима и здравим појединцима (30,31). NMDA рецептори су јонски канали који су везани за лиганде и кључни су за ексцитациону неуротрансмисију, екситотоксичност и пластичност Глутамат је један од главних ексцитаторних неуротрансмитера у централном нервном систему сисара и абнормалности у глутаматергичној неуротрансмисији могу утицати на синаптичку пластичност и кортикалну микровезност, нарочито на функционисање NMDA рецептора. Хипофункција NMDA рецептора може резултирати морфолошким и структурним променама мозга што доводи до појаве психозе (32).

Табела број 2. Механизам деловања атипичних антипсихотика и рецепторни механизам деловања (33)

Механизам деловања	Клиничка ефикасност	Могућа нежељена дејства
D2 - антагонизам (D ₂ antagonism)	↓Позитивни симптоми	Екстрапирамидални симптоми (ЕПС) ↓Негативни симптоми ↑Когнитивни симптоми ↑Поспаност
D2 парцијални агонизам (D ₂ partial agonism)	↓Позитивни симптоми ↓Негативни симптоми ↓Когнитивни симптоми	Мало или нимало ЕПС Активација понашања
D3 антагонизам (D ₃ antagonism)		↑Ендокрина дисфункција ↑Раст телесне тежине ↑Сексулане дисфункције
5 - ХТ _{2А} антагонизам (5-HT _{2A} antagonism)	↓Негативни симптоми	↓ЕПС ↓Хиперпролактинемија
5 - ХТ _{1А} парцијални агонизам (5-HT _{1A} partial agonism)	↓Негативни симптоми ↓Когнитивни симптоми ↓Анксиозност ↓Депресија	↓ЕПС ↓Хиперпролактинемија
5- ХТ _{2С} антагонизам (5-HT _{2C} antagonism)		↑Телесне тежине ↑Апетит
M1 антагонизам (M ₁ antagonism)	↓ЕПС	↑Анихолинергички симптоми- сува уста, опстипација, тахикардија, ... ↑Drowsiness ↑Cognitive impairment
M1 агонизам (M ₁ agonism)	↓Психотички симптоми ↓Когнитивни симптоми	
M3 антагонизам (M ₃ antagonism)		↑Дијабетес мелитус тип 2 ↑Хипергликемијски хиперосмоларни синдром ↑Диабетична кетоацидоза
H1 антагонизам (H ₁ antagonism)		↑Телесне тежине ↑Поспаност ↑Хипотензија
Алфа 1 антагонизам (α ₁ -antagonism)		↑Вртоглавица ↑Поспаност ↑Тахикардија ↓Крвни притисак ↑Ортостатска хипотензија
Алфа 2 антагонизам (α ₂ -antagonism)	↓Depressive symptoms	↑Анксиозност ↑Тахикардија ↑Тремор ↑Проширење зеница ока ↑Знојење
Бета антагонизам (β-antagonism)		↑Ортостатска хипотензија ↑Седација ↑Сексуалне дисфункције
Глутаминска модулација (Glutamate modulation)	↓Позитивни симптоми ↓Негативни симптоми ↓Когнитивни симптоми ↓Прогресија болести	

Легенда: ↓ Смањење ↑ Повећање

1.3. Класификација антипсихотичких лекова

Примена антипсихотика је релативна новост у медицини и она је евидентна од краја двадесетог века, када се први пут и користе у модерној медицини. Они су данас саставни део фармакотерапијских протокола и њихов развој је евидентан и креће се у смеру развоја подједнако или значајно ефикаснијих лекова, али уз минимизацију појаве нежељених ефеката услед њихове дуготрајне примене. Њихова подела може бити различита, али је историјски гледано, сходно времену појављивања, најприхваћенији модел поделе, подела на типичне и атипичне антипсихотичке лекове.

Типичност антипсихотичких лекова се огледа у томе, што ови лекови показују изражено антипсихотичку ефикасност, деловањем преваходно на различите подтипове допаминских рецептора. Њихова уска селективност у позитивном деловању, се показала као веома корисна и ефикасна у почетној иницијалној терапији, али су током хроничне терапије доводила до појаве нежељених дејстава, која се пре свега огледају у екстрапирамидалним ефектима и њиховим компликацијама. Временом, нежељена дејства типичних антипсихотичких лекова су постала кључни лимитирајући фактор у њиховом ширем коришћењу, посебно током хроничне примене, коју карактерише лечење психоза и сродних обољења. Регистрован је велики број ових лекова, али је временом њихова употреба сведена на неколико, додуше веома ефикасних и корисних, који су временом и сами постали лекови друге линије примене. Користе се као алтернатива код недовољно ефикасне примене атипичних лекова или у ситуацијама када су нежељена дејства атипичних лекова била таква да су типични антипсихотици остали једина могућа алтернатива. Данашња искуства и пракса показују да се од расположивих лекова из групе типичних антипсихотика, још увек може регистровати употреба халоперидола, хлорпромазина и флуфеназина, док се лекови из осталих подгрупа све мање користе.

Атипични антипсихотици више нису новина у терапији, пре би се могло рећи да представљају стандард у лечењу психотичких обољења. У модерним фармакотерапијским протоколима, атипични антипсихотици су постали лекови првог избора, а њихова мултипотентност деловања на различитим рецепторним местима и системима, омогућили су искусним психотерапевтима значајно проширене могућности деловања и проширивања индикационих опсега, што са типичним антипсихотичким није био случај. Они су се показали као лекови сличне терапијске ефикасности за третман маније и позитивних симптома шизофреније као и типични антипсихотици, али са значајно мањим степеном појаве екстрапирамидалних симптома. Родоначелник ове групе лекова је клозапин, а веома брзо му се придружио оланзапин, кветиапин, рисперидон, палиперидон, ариприразол и многи други. Кључна разлика у односу на типичне антипсихотике је та, да се код атипичних степен везивања за допаминске D₂ рецепторе значајно мањи, а да је антипсихотички потенцијал сличан. Одговор је делимично дефинисан чињеницом да су ови лекови поред допаминских и серотонински антагонисти, конкретно 5-HT₂ а антагонисти, који прате паралелно допамински антагонизам и конкретно делују на исте симптоме. Нормално, нису сви атипични антипсихотици исти. Њихова различитост у рецепторном нивоу деловања, креира и различите потенцијале блокаде серотонинских и допаминских рецептора деловања. Нормално број подтипова рецептора 5-HT у мозгу је доста велики и на различитим позицијама, како на постсинаптичким, тако и на пресинаптичким и они имају своју улогу у контроли психијатријских обољења као што су психозе, али и много других. Та шароликост серотонинских подтипова рецептора у комбинацији са деловањем на

остале рецепторе у мозгу чини резановрсност атипичних антипсихотика веома великом, на шта указује и велики број додатних индикација за које се ови лекови користе и та како регуларних тако и такозваних ван индикационих или „ *off label*“ опција за коришћење.

Парцијални антагонизам антипсихотика је веома пожељан и подразумева блокаду допамин D 2 рецептора која је важна за смањење месолимбичке хиперактивности и смањење позитивних симптома шизофреније, али уз постојање делимичног агонизма на допамин D 2 рецепторима (34). Оваква комбинација омогућава успостављање квалитетне равнотеже између контроле симптома и нуспојава. Овакав фармаколошки профил антипсихотика омогућава шири спектар деловања лекова, али уз значајно мањи развој нежељених ефеката.

1.4. Нежељена дејства примене типичних и атипичних антипсихотика

Кључни проблем појаве нежељених дејстава ових лекова се огледа у њиховом карактеру примене и који је по правилу дуготрајан, малтене до краја живота, као што је то у случају лечења шизофреније. Толико дуга експозиција људског тела екстерној супстанци, логично је да мора да остави и своја негативна дејства и поред одличних корисних терапеутских ефеката антипсихотика. Нежељена дејства су честа и скоро неодвојива од терапијских, због различитих типова блокаде рецептора на које ови лекови делују, почев од најјачих неселективних блокада допаминских рецептора, преко селективних и делимичних блокада рецепторних места доминантно у структурама мозга, али и у остатку организма. Кључна нежељена дејства везана за неселективну блокаду рецептора у мозгу је утицај на све локације где се рецептори налазе па самим тим и деловање на системе које регулишу бројне функције: менталну активност, стање будности, мотилитет дигестивног система, ендокрине функције и друге. Појава нежељених ефеката су у почетку највише ограничавали примену типичних антипсихотичких лекова, због чега су са доста оптимизма уведени атипични антипсихотици. И поред почетних јасних предности њихове примене и евидентно мање појаве нежељених ефеката карактеристичних за типичне антипсихотике, нажалост и атипични су временом показали своју тамну страну и појаву специфичних нежељених ефеката везаних за појаву кардиоваскуларних и кардио метаболичких компликација.

Важна разлика је у профилу нежељених дејстава између типичних и атипичних антипсихотика се огледа у смањеној појави екстрапирамидалних нежељених ефеката и хиперпролактиније који су карактеристични проблеми везани за примену типичних антипсихотика. 5 НТ 2а рецептори су доминантно постсинаптички. На кортикалним неуронима су по правилу ексцитаторни и могу да утичу на нисходну регулацију ослобађања глутамата, који може да утиче на нисходну регулацију допамина. На приказани начин блокада 5НТ 2а утиче и на снижавање нивоа допамина у мозгу чиме се објашњава позитивни ефекат на симптоме шизофреније. Супротно, стимулација ових рецептора на кортикалним неуронима, стимулише лучење допамина.

Деловање на позитивне симптоме шизофреније подразумева окупацију до 80% D 2 рецептора доминантно у мезолимбичном путу и пратећим једрима као што је *nucleus accumbens*³². Блокадом овог пута се утиче на позитивне симптоме шизофреније и смирује пацијент, али се на жалост блокирају и остале функције за које је овај део задужен а које имају везу са оним што препознајемо као позитивна стимулација карактеристична као задовољство приликом конзумирање хране, пића, слушање музике или коришћењем стимулативних супстанци. Када типични антипсихотици делују, они

доводе до претеране блокаде D2 рецептора, веће од 60 - 80% чиме се блокирају и они делови мозга који садрже допаминске рецепторе а чијом блокадом се ослобађају потенцијали за стварање екстрапирамидалних симптома и хиперпролактинемije (регија дорзалног стриатума и хипофизе). Блокадом серотонинских 5 HT_{2a} рецептора, делује се посредним везама на блокаду допамина што резултира и смањеном окупацијом D 2 рецептора, али не и већом од 60%. То је довољно за остваривање позитивних терапијских ефеката, али не и довољно за потенцирање нежељених дејстава, карактеристичних за типичне антипсихотике (35). Окупација допаминских рецептора већом од 80% , евидентира се ефекат на њихову функцију и у другим деловима мозга где се ови рецептори налазе као што су дорзални стриатум и директно су одговорни за појаву екстрапирамидалног синдрома (симптоми слични паркинсонизму – укоченост, тремор), дистоније (невољне покрете лица и тела), акатизију (моторну узнемиреност). Тардивна или позна дискинезија је најтежи проблем, јер често не пролази ни после прекида узимања лека који је изазива, а нема лека који може да је ублажи, док је претерана блокада допаминских рецептора у регији хипофизе манифестује се појавом хиперпролактинемije и њених последица: гинекомастија и импотенција код мушкараца и галактореја код жена, настају зато што лекови спречавају инхибиторно деловање допамина на аденохипофизу.

Применом атипичних антипсихотика, наведена нежељена дејства карактеристична за типичне антипсихотике су у већој мери стављена под контролом, али су појаве кардиометаболичких компликација (посебно током примене оланзапина и клозапина) довеле до нових терапијских проблема. Уз седатерни начин живота без значајне и програмски дефинисане физичке активности психијатријских болесника, развој метаболичких компликација и настанак дијабетеса може да доведе до преране смрти и губитака 20-30 година животног века. С обзиром да шизофрени пацијенти већ имају повећани ризик од кардиоваскуларних компликација, доказана је пет пута већа могућност инфаркта миокарда него код здраве популације, док је „CATIE“ студија указала на 40% веће преваленце метаболичког синдрома (36,37).

Проблеми са овим нежељеним ефектима терапије антипсихотичним лековима се компликују са дужином њихове примене. Дуготрајно спровођење лечења, по правилу доводи до развоја метаболичког синдрома и инсулинске резистенције, појава дијабетеса и пратећих кардиоваскуларних компликација у виду артериосклерозе, повишеног крвног притиска, па до појаве њихових најгорих компликација као што су инфаркт срца или мождани удар. Различити карактер и манифестације болести намеће потребу правилног избора примене правог лека сходно потреби пацијента и његовој клиничкој слици.

1.5. Оланзапин

Оланзапин је атипични антипсихотик структурно сличан клозапину. Његова атипичност се највише огледа у чињеници да се током његове примене у уобичајеним или вишим дозама не појављују екстрапирамидални проблеми или хиперпролактинемија, чак ни током дуготрајне примене. Оланзапин је познат као МАРТА (*multi-acting receptor targeted antipsychotics*) (38). Предложени механизми за деловање атипичних антипсихотика као и оланзапина је допаминергичка и серотонергичка модулација и индукција. Оланзапин поседује висок афинитет ка 5-НТ₂а рецепторима од D₂ рецепторима (висок однос 5-НТ₂ а / D₂). У поређењу са осталим атипичним лековима, оланзапин има високи афинитет према серотонинергичким 5-НТ₂ а, 5-НТ₂ с, 5-НТ₃ 5-НТ₂ А и 5-НТ₆ рецепторима, средњи афинитет за допаминергичке D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ и мускаринске M₁ - M₅ рецепторима, низак афинитет према адренергичким рецепторима α ₁ и α ₂ и највећи афинитет према рецепторима H₁ хистамина (оланзапин је моћан антагонист H₁ хистаминских рецептора) (39,40,41).

Иако је уобичајени распон доза за оланзапин 5–15 мг/дневно, нема литературно потврђених стандардних референтних вредности у погледу очекиване концентрације оланзапина у крви након терапијске примене. У уобичајеним дневним дозама (5-30 мг / дан), средње концентрације у плазми могу се кретати од 10 до 54 нг / мл. У клиничким студијама стабилна концентрација оланзапина у крви ретко прелази преко 150 нг / мл, али се као потенцијало реална концентрација за развој токсичности предложена концентрација нижа од 100 нг /мл (42). Апсорбује се око 85% оралне дозе унетог оланзапина, али се отприлике 40% инактивира у јетри путем механизма првог проласка кроз јетру. Његова орална биорасположивост је око 60%. Полуживот елиминације код здравих појединаца је просечно у распону од 21- 54 сата. Највиша концентрација у плазми се постиже унутар шест сати. Лек се везује за протеине плазме у 93%, а то су углавном албумини (90%) и гликопротеин алфа 1-киселине (alpha 1-acid glycoprotein) -77%. Волумен дистрибуције је 16,4 ± 5,1 литара (X±SD). Средња вредност клиренса у плазми износи 26 литара на сат (у распону од 12 - 47 литара/сат). Праћењем вредности радиоактивно обележеног [¹⁴C]-оланзапина, фармакоинетске анализе показују да се 87% оланзапина излучује ван и то 30% у фецесу и 57% путем урина (43). Пушачи и мушкарци показују веће вредности клиренса за оланзапин од жена и непушача (44).

Фармакодинамска дејства оланзапина су интересантна и карактерише их деловање на велики број рецепторских места чиме лек показује широк фармаколошки профил. Лек је доминантно антагониста 5НТ₂а и D₂ рецептора, што је и основа његовог антипсихотичког деловања. У претклиничким студијама, оланзапин је испољио велики распон афинитета за серотонинске 5НТ₂а/2с, 5НТ₃, 5НТ₆, допаминске D₁, D₂, D₃, D₄, D₅, холинергичке мускаринске (M₁– M₅), адренергичке α ₁ и хистаминске H₁ рецепторима (45). Бихејвиоралне студије на животињама које су примале оланзапин, показале су антагонизам према 5НТ, допаминским и холинергичким рецепторима, што је у складу са профилем везивања за рецепторима. Оланзапин је „*in vitro*“ показао већи афинитет за серотонинске 5НТ₂ рецепторима него за допаминске D₂ рецепторима, па тиме и веће деловање на 5НТ₂ него D₂ у „*in vivo*“ моделима. Електрофизиолошке студије су показале да оланзапин селективно смањује активацију мезолимбичких (A10) допаминергичких неурона, док је имао мали утицај на стријатне путеве, укључене у моторну функцију (46) Оланзапин је смањио условни одговор избегавања, теста који указује на антипсихотичну активност лека, у дозама мањим од оних које изазивају каталепсију, ефекат који је индикативан за нежељена дејства на

моторику (45). За разлику од неких других антипсихотика, оланзапин повећава одговор у „анксиолитичком“ тесту. После појединачне оралне дозе лека (10 mg) код здравих добровољаца, у студији позитронске емисионе томографије (PET), показала се да је дошло до већег заузимања 5-HT_{2A} него допаминског D₂ рецептора. Поред тога, студија снимања једнофотонском емисионом компјутеризованом томографијом (енг. *Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT*) је открила да је код пацијената са шизофренијом који су одреаговали на оланзапин било заузето мање стријатних D₂ рецептора него код пацијената који су реаговали на неке друге антипсихотике или рисперидон, а да је заузетост била упоредива са оном код пацијената који су добро реаговали на терапију клозапином (47).

Оланзапин је снажан антипсихотички лек захваљујући комбинацији различитих утицаја на рецепторне системе. Он је моћан блокатор 5-HT₂ и показује већи степен окупације 5-HT₂ рецептора од D₂ у свим примењиваним дозама. При концентрацији у плазми од 10,3 нг / мл, оланзапин је заузимао 50% расположивих D₂ рецептора. У уобичајеном клиничком распону од 10-20 мг / дан, заузетост D₂ рецептора варира од 71% до 80% (48). У овим дозама лек по правилу не показује екстрапирамидална нежељена дејства. Биполарни пацијенти на терапији са оланзапином нису показивали појаву екстрапирамидалних симптома на нивоу заузетости D₂ од 28-80%, па се сматра да на овом степену и распону заузетости рецепторних места постиже оптималан терапијски одговор уз минимална нежељена дејства (49). Снажан утицај оланзапина у блокади хистаминских H₁ рецептора, M₁ мускаринских и алфа 1 адренергичких рецептора је последица благог до средње израженог седативног ефекта, али такође и појаве пораста телесне тежине и одређених кардиометаболичких проблема повезаних с растом концентрације липида и триглицерида у крви (50).

Формулација лека има значајну улогу у степену окупације D₂ рецептора. На примеру дугоделујућег оланзапина у ињекцијама, 60% њихове окупације се постиже тек после пет ињекционих циклуса (51). Ова формулација је најмање једнако ефикасна као интрамускуларни халоперидол или лоразепам у лечењу пацијената са акутном агитацијом повезаном са шизофренијом или биполарном манијом, уз јасну предност бржег почетка деловања (52).

1.6. Индикације и начин дозирања лека оланзапин

Лек је индикован у терапији шизофреније, умерених до тешких маничних епизода, одржавању клиничког побољшања током континуиране терапије код пацијената који су показали одговор на почетну терапију. Оланзапин је индикован као превентива од поновног јављања, код пацијената са биполарним поремећајем, где се може применити и у комбинованој примени са антидепресивом флуокосетином. Уобичајено дозирање за овај лек 10 мг/дневно као почетна доза, самостално или у комбинованој терапији, а у терапији маничних напада примењује се и доза од 15 мг дневно. Генерално, опсег примене лека се креће од 5 до 20 мг/дан када је орална примена лека у питању (53).

Поред оралне примене лек се може користити и као интрамускуларна ињекције у форми прашка за растварање од 10 мг и ефективном дозом од 5 мг/мл (54,55) или у форми пролонгиране депо ињекције (*olanzapine pamoate monohydrate*), где се после растварања добија 150 мг активног лека. Интрамускуларни оланзапин брзо делује и индикован је за употребу код пацијената са агитацијом повезаном са шизофренијом или

биполарном манијом. Нема разлике у ефикасности интрамускуларног оланзапина у овим индикацијама у односу на ињекциони халоперидол (56,57) . Оланзапин се може давати независно од хране, јер храна не утиче на ресорпцију. Када се прекида са терапијом оланзапином, потребно је размотрити постепено смањивање дозе. Лек се користи код одраслих пацијената старијих од 18 година.

1.7. Интеракције мере опреза услед примене оланзапина

С обзиром да се метаболизам оланзапина одвија помоћу CYP1A2, супстанце које могу специфично да индукују или инхибирају овај изоензим, исте могу да утичу на фармакокинетику оланзапина (58).

Индукција CYP1A2 - метаболизам оланзапина може да се индукује пушењем и карбамазепином, што може да доведе до смањења концентрација оланзапина.

Инхибиција CYP1A2 – флувоксамин, ципрофлоксацин, значајно инхибирају метаболизам оланзапина и то више код пушача. Треба размотрити могућност примене мањих почетних доза оланзапина код пацијената који су на терапији флувоксаминим или ципрофлоксацином.

Активни угаљ смањује биорасположивост орално примењеног оланзапина за 50 до 60%. Оланзапин нема значајних потенцијала и утицаја на метаболизам осталих лекова. Коришћење лека заједно алкохолом или паралелном применом са лековима који могу проузроковати депресију централног нервног система, могу ову депресију повећати. Није препоручљива примена лека са антипаркинсонцима код пацијената са Паркинсоновом болешћу и деменцијом. Потребан је опрез уколико се оланзапин истовремено примењује са лековима за које се зна да повећавају QTc интервал, поготово код старијих особа.

Током терапије антипсихотицима, побољшање пацијентовог клиничког стања се не може очекивати у кратком временском интервалу и за прве позитивне терапијске ефекте, потребно је од неколико дана до неколико недеља (59). Пацијенти су по правилу под пажљивим надзором током тог периода, с обзиром да су потенцијални проблеми коришћења лека познати. Фармаколошки профил нежељених догађаја током примене оланзапина је значајно бољи у односу на профиле појаве нежељених ефеката током примене типичних атипсихотика. У компаративним студијама у трајању од једне године или краће, примена оланзапина је била повезана са статистички значајно мањом инциденцом тардивне дискинезије која је била повезана са терапијом. Пријављени су и ретки случајеви појаве неуролептичког малигног синдрома повезаног са оланзапином. Лек има ниску антихолинергичку активност. Неутропенија је велики проблем током терапије са клозапином, док је оланзапин ту релативно безбедан, али је надзор потребан, посебно када су се оланзапин и валпроат употребљавали истовремено. Оланзапин се не препоручује за употребу код пацијената са психозом и/или поремећајима понашања повезаним са деменцијом зато што повећава морталитет и ризик од појаве цереброваскуларног догађаја. Старост > 75 година и васкуларни/комбиновани тип деменције су идентификовани као фактори ризика за ЦВ цереброваскуларне нежељене догађаје удружене са терапијом оланзапином. Није утврђена ефикасност оланзапина у овим испитивањима, па су код ових пацијената и не препоручује. Не препоручује се употреба оланзапина у терапији психоза повезаних са применом допаминских агониста код пацијената са Паркинсоновом болешћу. У

клиничким испитивањима су веома често пријављени погоршање симптоматологије паркинсонизма и халуцинације, много чешће него са плацебом, а оланзапин није био много ефикаснији од плацеба у терапији психотичних симптома. Антихолинергична активност оланзапина је мала и препоручује се опрез једино када се оланзапин прописује пацијентима са хипертрофијом простате или паралитичким илеусом и повезаним стањима.

1.8. Нежељена дејства лека оланзапин наведена у сажетку карактеристика лека

Сходно извештајима (60) у званичним Сажецима карактеристика лека за оланзапин – регистрованим у Републици Србији и доступни на сајту Националне агенције за лекове и медицинска средства-АЛИМС профил врло честих нежељених дејства овог лека је специфичан (61). Најчешће нежељене реакције повезане са употребом оланзапина у клиничким студијама биле су сомноленца, повећање телесне масе, еозинофилија, повишени нивои пролактина, холестерола, глукозе и триглицерида, глукозурија, повећан апетит, вртоглавица, акатизија, паркинсонизам, леукопенија, неутропенија, дискинезија, ортостатска хипотензија, антихолинергична дејства, пролазни асимптоматски пораст вредности аминотрансфераза јетре, осип, астенија, замор, пирексија, артралгија, повећане вредности алкалне фосфатазе, високе вредности гама глутамил трансферазе, високе вредности мокраћне киселине, високе вредности креатин фофокиназе и едем. Овако представљен профил нежељених ефеката оланзапина може се сматрати корисним, код пацијената код којих постоји проблем са појавом екстрапирамидалних симптома или галагореје. Оланзапин има предности код ових пацијената с обзиром да је евидентно мања инциденца појаве екстрапирамидалних симптома, као и један од најмањих пораста пролактина, ЕПС-а и малим порастом пролактина током испитивања у акутној фази (62). У групи нежељених дејстава овог лека, а на основу података из званичног сажетка лека, појава истих које се карактеришу као веома честа ($\geq 1/10$), посебно се издвајају повећање телесне масе, сомноленца, ортостатска хипотензија и повишени нивои пролактина у плазми.

Клинички значајно повећање телесне масе примећено је у свим почетним категоријама индекса телесне масе (ВМІ). У зависности од дужине трајања лечења, у званичним карактеристикама лека, повећање телесне масе је двојако:

Након краткотрајног лечења (медијана трајања 22 дана), повећање телесне масе је:

- $\geq 7\%$ од почетне телесне масе (кг) било је веома често (40,6%);
- $\geq 15\%$ од почетне телесне масе било је често (7,1%),
- $\geq 25\%$ било је често (2,5%).

Након краткотрајне терапије (медијана трајања 47 дана), повећање телесне масе је било:

- $\geq 7\%$ од почетне телесне масе било је веома често (22,2%);
- $\geq 15\%$ од почетне телесне масе је било често (4,2%),
- $\geq 25\%$ од почетне масе је било повремено (0,8%).

Током дуготрајне изложености (најмање 24 недеље), повећање телесне масе је:

- $\geq 7\%$ од почетне телесне масе код 89,4%
- $\geq 15\%$ од почетне телесне масе код 55,3%
- $\geq 25\%$ од почетне телесне масе је било код 29,1%

Током дуготрајне изложености леку (најмање 48 недеља) повећање телесне масе је било:

- $\geq 7\%$ од почетне вредности је било веома често код 64,4%,
- $\geq 15\%$ од почетне вредности је било код 31,7%
- $\geq 25\%$ од почетне вредности је било код 12,3% пацијената.

Евидентно је да дуготрајаност примене оланзапина значајно утиче на проценат учешћа појаве повећања телесне масе код пацијената, као и да је чињеница да се ова појава појављује одмах са почетком примене лека.

Удео пацијената код којих су се јављале нежељене, клинички значајне промене у повећању телесне масе, вредности глукозе, укупног LDL/HDL холестерола или триглицерида током времена се повећава. Код одраслих пацијената који су завршили лечење током периода од 9 до 12 месеци, стопа повећања средње вредности глукозе у крви се смањила након просечно 6 месеци.

1.9. Контраиндикације за примену оланзапина

Контраиндикације су веома лимитиране и своде се на забрану коришћења уколико постоје реакције преосетљивости на активну супстанцу или на било коју од помоћних супстанци у саставу лека или пацијент има ризик од глаукома затвореног угла.

1.10. Кардиометаболичке болести код оболелих од психоза и терапија са оланзапином

Шизофренија је повезана са повећаном смртношћу и смањеним животним веком, а кардиоваскуларне болести су најчешћи узрок смрти. Пре него ли се евалуира директни утицај оланзапина на развој кардиометаболичких промена код оболелих који га примају у својим терапутским протоколима, евидентно је да оболеле особе са психијатријским поремећајима генерално имају тенденцију повећаног ризика од развоја кардиоваскуларних и метаболичких обољења у односу на општу популацију невезано за примену лекова.

Уочена је и веза између одређених животних навика и веће инциденце шизофреније. Према извештајима Светске здравствене организације (СЗО), земље с већим укупним уносом животињских засићених масти евидентирају већа преваленцу шизофренија од оних земаља у којима је евидентиран начин исхране базиран на уносу полусасићених и незасићених масних киселина карактеристичних за рибу и морске плодове (63). Шизофрени пацијенти су нередовни у исхрани и уносе храну једном до два пута дневно, пију више кафе, уносе неконтролисано инстант оброке између obroка и доста пуше. Физичка активност им је изразито смањена (64). 51% од 159 болесника са шизофренијом је јело оброке мање од 15 минута, 41% није уносило воће, а 63% није јело рибу, а такође су примећен неадекватан и недовољан унос различитих храњивих материја као што су витамини Б групе, витамин Д, фолна киселина, магнезијум (65,66). Евидентна је повећана зависност од хране, више код жена него мушкараца оболелих од шизофреније, са значајно повећаним уносом хране и енергије која је доминантно била базирана на уносу маси и угљених хидрата (67). На основу наведеног јасно је да је популација шизофрених пацијената изложена екстремном ризику од настанка развија прекомерне гојазности, последичног метаболичког синдрома и његових компликација.

Познато је да особе са шизофренијом и афективним поремећајима имају високу преваленцију фактора ризика за кардиоваскуларне болести, попут дијабетеса и гојазности, који су реда 1,5 до 2,0 пута већи него у општој популацији (68). Шизофрени пацијенти имају повећани ризик од кардиоваскуларних компликација и доказана пет пута већа могућност инфаркта миокарда него код опште популације (36). Код ових пацијената је морталитет два до три пута већи него у општој популацији, а кардиоваскуларна и метаболичка обољења доминирају (69). Инциденца појаве дијабетеса, масне јетре, повећања притиска, инфаркта срца и мозга је дефинитивно већа код психијатријских болесника у односу на општу популацију (68).

Пацијенти са шизофренијом изложени су великом ризику од метаболичког синдрома, високом фактору ризика за кардиоваскуларне болести. Истраживања су потврдила је да је 40% од 3470 француских пацијената са шизофренијом (просечна старост 39,3 године) умрло током периода праћења од 11 година. У студији округа Олмстаед, пацијенти са шизофренијом су имали значајно повећану смртност, нарочито од кардиоваскуларних болести (70,71). Пацијенти са шизофренијом често имају више фактора ризика за кардиоваскуларне болести. Висока преваленца гојазности и пораст индекса телесне масе (БМИ) код пацијената са менталним поремећајем, један су од главних фактора за развој кардиоваскуларних болести (72). Праћење вредности глукозе је од пресудног значаја, а пацијенти са факторима ризика за дијабетес мелитус (нпр. гојазност, породична историја дијабетеса) који почињу лечење оланзапином, треба да буду подвргнути тесту на глукозу у крви на почетку лечења и периодично током лечења.

Поред стомачне гојазности и дислипидемија, хипертензија и дијабетес мелитус имају адитивне ефекте на повећани ризик код појединца од развоја шећерне и кардиоваскуларних болести. Стопе пушења веће су у болесника са шизофренијом него у општој популацији. Пацијенти са шизофренијом који пуше су изложени већем ризику од смрти као и смрти од кардиоваскуларних болести у поређењу са шизофреним пацијентима који не пуше (73,74).

1.11. Епидемиолошки подаци

Процена је да је 1% светске популације оболело од шизофреније (75,76,77). То значи да се у популацији величине Србије, може очекивати између 60.000 и 80.000 пацијената оболелих од ове болести различитог узраста и животне доби. Годишња инциденца ове болести је 10 до 20 нових случајева на 100.000 становника, док је живот оболелих од шизофреније доказано краћи од од уобичајеног трајања карактеристичног за општу популацију за 20 до 30 година. Другу велика група пацијената са психотичким поремећајима чине оболели од биполарног афективног поремећаја. То је вишекомпонентна болест која укључује епизоде озбиљног поремећаја расположења, неуропсихолошког дефицита, имунолошких и физиолошких промена и поремећаја у функционисању. Један је од водећих узрока инвалидности у свету (78) и повезан је са високом стопом преране смртности и од самоубиства као и од пратећих медицинских коморбидитета. Просечна старост оболелих од биполарних болести је слична као и код оболелих од шизофреније, па се болест манифестује најчешће у периоду у раним двадесетима, конкретно чешће у периоду од 20 до 30 година (79). Ова болест је нешто заступљенија у популацији у односу на шизофренију, а епидемиолошка испитивања указују да се може очекивати да се број оболелих креће око 2 % у општој популацији (80), што значи да у популацији земље као што је Србија, можемо очекивати између 100.000 и 150.000 оболелих од ове болести.

Сходно наведеним подацима о броју оболелих од шизофреније и биполарних афективних болести у Републици Србији, можемо закључити на основу епидемиолошких показатеља да у Србији живи велики број оболелих од психотичких болести који због природе својих болести сами по себи имају значајно повећани ризик од настанка кардиоваскуларних и метаболичких обољења. Увођењем лекова из групе антипсихотика, који се доминантно користе у лечењу наведених болести, проблем се само додатно усложњава јер се на већ евидентно повећани ризик, надовезују потенцијални нежељени ефекти примене лекова. Дефинитивно, психозе, њихова терапија и нежељена, посебно кардиометаболичка дејства по својој форми и утицају представљају значајан медицински, социјални, друштвени, а посебно породични проблем. Психијатријски пацијенти деле судбину остатка популације и код њих је појава незаразаних масовних болести слична по формама као и код опште популације, али је евидентно да је проценат обољења већи и чешћи. Употреба различитих лекова код ове популације је уобичајена и иде од неопходне па до јасних примера полифармације, што све додатно оптерећује функције детоксикације тела у јетри и доводи до нагомилавања ризика од развоја кардиометаболичких компликација (81).

1.12. Кардиометаболичке компликације примене антипсихотика

Антипсихотици имају високи потенцијал развоја ризика за настанак кардиоваскуларних болести (82). У основи, антипсихотички индуковано повећање телесне тежине је повезано са антагонистичким ефектима на рецепторима; хистамина Н1 (83,84), серотонин 5-НТ2с (85) и рецепторима допамина D 2 (86), а развој хипергликемије и последичног позитивног дијабетогеног ефеката је повезан са антагонизмом на рецепторима хистамина Н1, 5-НТ2с и мускаринским М рецепторима (87). Антагонизам на 5-НТ2с рецепторима повећава инсулинску резистенцију и смањује могућност транспорта глукозе у скелетне мишиће, чиме се повећава ризик од дијабетеса (87).

Лептин, грелин и адипонектин су пептидни хормони који учествују у регулацији апетита и телесне тежине и могу бити укључени у развој метаболичког синдрома који настаје или је бар добрим делом индукован применом антипсихотичких лекова (88). Лептин је молекул који се продукује у адипоцитима и активно се транспортује у хипоталамус где делује ограничавајући на унос хране. Већина пацијената на антипсихотикима повећала је, а не смањила ниво лептина у крви, што сугерише да је повећање лептина последица (а не узрок) повећане телесне тежине или да се развила резистенција на лептин (88). Грелин је хормон који се лучи из дигестивног система и један је од сигнала глади који регулише потребу за узимањем хране путем централне активности. Нивои грелина у плазми су повећани, непромењени и смањени у различитим студијама на пацијентима са шизофренијом леченим антипсихотикима (88). Адипонектин се излучује масним ткивом, а ниво циркулације обрнуто је у корелацији са телесном тежином и инсулинском резистенцијом. Као и студије о грелину и студије о нивоу адипонектина у повећању телесне масе узроковане антипсихотиком су произвеле конфликтне резултате (88).

Генски полиморфизам може имати утицаја на различитим нивоима, почев од процеса транспорта лекова, ензима који посредују у метаболизму лекова или на нивоу протеинских рецептора на којима се лек везује. Добијање телесне тежине посредовано антипсихотичним леком, повезано је са полиморфизмом гена за рецептор 5-НТ2с и функционалним полиморфизмом за ген лептина (89), гена (*MTHFR gene*) и гена за D 2 рецептор (90, 91).

Не треба заборавити и утицај антипсихотика преко својих моћних рецепторних потенцијала и на периферне системе и органе и њихову везу са развојем кардиометаболичких компликација. Периферни допаминергички систем је важан модулатор ендокриних и кардиоваскуларних система (92). Током интензивне симпатикомитетчке стимулације, ендогени допамин (осим норадреналина и адреналина) служи за модулирања симпаткусног пражњења (93). Познато је да агонисти D 2 рецептора показују доказану ефикасност у смањењу вредности крвног притиска, глукозе и липида у плазми, побољшавајући неке аспекте метаболичког синдрома (94). Арипипразол је парцијални агонисти допамина који се користе у лечењу психозе не изазива метаболички синдром или га изазива значајно мање у односу на оланзапин или клозапин, вероватно захваљујући свом стимулативном деловању на екстра церебралне пресинаптичке D 2 рецепторе (95).

1.13. Оланзапин и кардиометаболичке компликације

Испитивања ефикасности и профила сигурности оланзапина указују на високу ефикасност лека у дефинисаним индикацијама, што је потврђено бројним студијским анализама (38). Побољшање симптома шизофреније се примети већ у року од једне недеље, иако је за пуну ефикасност лека потребна примена од минимум месец дана. Већина пацијената доживи смањење симптома, ретко и потпуну ремисију, па многи пацијенти користе лек изузетно дуго (96). Оланзапин је био ефикаснији у лечењу симптома шизофреније, али је по правилу доводио до повећање тежине и гојазности код пацијената у односу на друге антипсихотике. Овај проблем су пратиле појаве повећања вредности глукозе и холестерола у крви и последичне метаболичке нуспојаве (97). Оланзапин и клозапин доказано повећавају апетит и повећани унос хране током њихове примене и постичу потрошњу висококалоричне масне хране код глодара, као и повећање тежине код пацова који су током 7 дана третирани са оланзапином (35).

Кардиометаболичке компликације примене оланзапина и клозапина су познате и описане и крећу се од почетног повећања осећаја глади, преко раста телесне тежине, пораста инсулинске резистенције и нагомилавања масти у органима и телу оболелог, преко лабораторијских манифестација које указују на поремећај липидног и гликемијског профила пацијената и на крају се завршавају с манифестацијама кардиоваскуларних и метаболичких обољења која сама по себи компликују и драматизују клиничку слику оболелих пацијената. Тај својеврсни метаболички ауто пут сигурно води у развој кардиометаболичких компликација и он је јасно временски завистан и детерминисан.

Почетни симптом деловања оланзапина је хиперфагија, која доводи до повећања телесне тежине, висцералне адипозности и накнадне резистенције на инсулин (98). Повећање нивоа глукозе у плазми, које се могу приписати или смањеном метаболизму глукозе од стране инсулина или повећаној ендогеној производњи глукозе у јетри, указује да оланзапин акутно индукује негативни утицај на нивое глукозе (99, 100). Оланзапин који је примењиван код пацова, интраперитонеално у дози од 10 мг/кг, доводио је до јаког метаболичког одговора у виду раста интолеранције на глукозу и инсулинску резистенцију после 8 недеља примене (101). Ова негативна активност оланзапина се не дешава самостално. Експеримент на мишевима је показао да хронична интраперитонеална примена 10 мг/кг/тт оланзапина, индукује инфламаторне реакције посредоване цитокинима у периферном масном и централном нервном систему и појаву метаболичких симптома на адипоцитима и периферији тела, са минималним или никаквим нежељеним ефектима на мозак (102). Мета-анализа тринаест студија, која је укључила 185.105 младих особа изложених антипсихотицима, показала је да је изложеност овим лековима значајно повећала однос стопе инциденције дијабетеса мелитуса типа 2 и да су лечење оланзапином и време излагања леку били главни променљиви фактори ризика за развој дијабетеса код младих (103). Са настанком раста ризика за развој дијабетеса, стварају се основе за негативни утицај на липидни профил, чије погоршање се делом објашњава његовим директним деловањем на адипоцитне ћелије која код пацова показују појачану липогенезу, посебно на оне смештеним у белом висцералном масном ткиву (104,105).

На овај начин пацијенти третирани овим лековима, у околностима континуиране примене и без активне борбе против наведених нежељених догађаја и њихових последица могу бити у великом ризику од настанка преране смрти и скраћењем живота

у односу на живот код особа које не користе ове лекове у лечењу психоза или осталих индикаци

Из наведених разлога логично је да лекар пре дуготрајне примене оланзапина или клозапина, добро изанализира потенцијале пацијената за развојем кардиометаболичких компликација и размисли о могућностима примене антипсихотика који имају мањи потенцијал ка развоју ових поремећаја као што су арипипразол, илоперидон, асенапин и слични. Уколико су индикације за примену оланзапина такве да је он лек избора за пацијента, у том случају је рационално спроводити стални лабораторијски и клинички мониторинг кардиометаболичких компликација и спроводити адекватне мере превенције везане за измене начина живота кроз мере адекватних хигијенско -дијететских мера, адекватне физичке активности и употребу лекова у превенирању и лечењу насталих промена.

1.14. Механизми настанка кардиовакуларних компликација са оланзапином

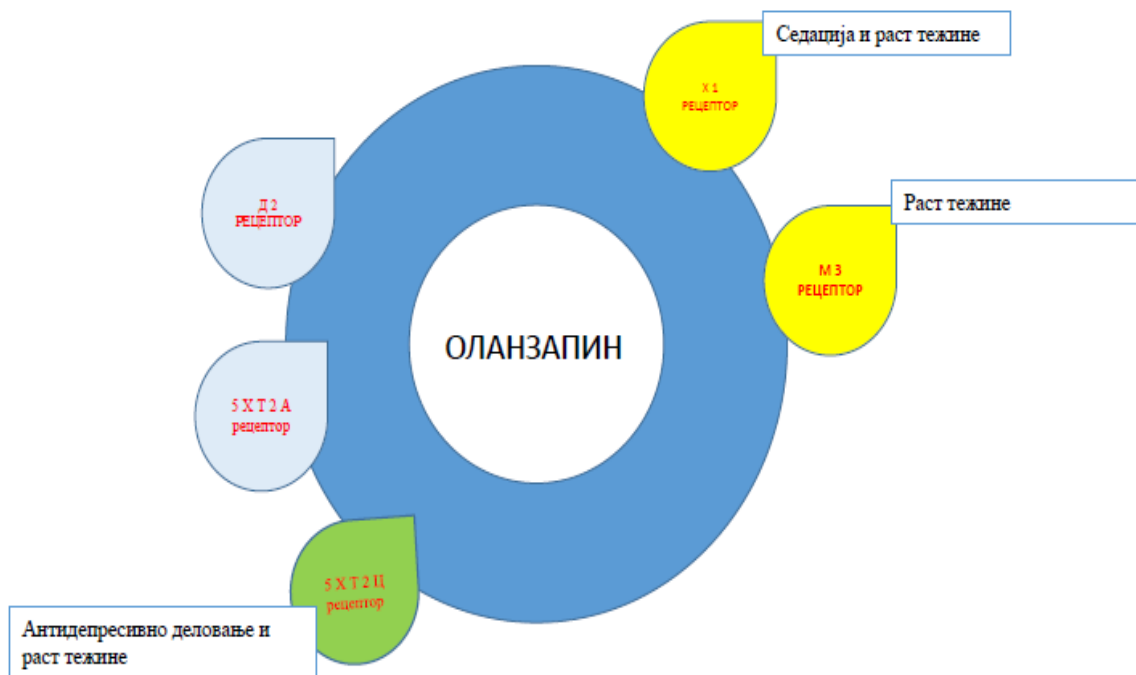
Раст телесне тежине и гојазност су независно од терапије повезани са пацијентима оболелим од шизофреније. Веза између гојазности и раста телесне тежине код шизофреније је потврђена у преко 2600 индексираних радова од стране (*MEDLINE is the U.S. National Library of Medicine*), што је и донекле разумљиво, с обзиром да пацијенти са шизофренијом имају по правилу лоше дијететске навике везане за конзумирање нездраве хране (106, 107, 108). Шизофренија је таква болест да сама по себи представља независни ризик за развој кардио-метаболичких компликација. Пацијенти са првим епизодама шизофреније имају смањену осетљивост на глукозу на пост, већу инсулинску резистенцију и већи ниво глукозе у плазми, инсулина и кортизола у односу на здраве контролне субјекте (109). Ови пацијенти имају и знатно већи проценат присуства адипозне гојазности (110).

Фармаколошки профил оланзапина је комплексан. Оланзапин је познат као МАРТА (*multi-acting receptor targeted antipsychotics*). Предложени механизми за деловање атипичних антипсихотика као и оланзапина је доминантно допаминергичка и серотонергичка модулација и индукција, уз веома важна модуларна деловања која по правилу укључују различите рецепторне системе на које овај лек делује (17 рецепторних места деловања) (40). Посматрајући кардиоваскуларна и метаболичка нежељена дејства која настају после примене оланзапина може се издвојити каскада догађаја чија дешавања зависе од дужине примене лека.

Лечење оланзапином је повезано је са већим ризиком од раста тежине и појавом метаболичког синдрома од које је веће у односу на остале типичне и атипичне антипсихотике уз последични развој оштећења ткива и органа и развоја конкретних кардиолшких и метаболичких обољења која се могу повезати са ефектима примене оланзапина (111, 112,113). Прве промене су везане за повећани унос хране и проблеме за повећање тежине, а последично томе долази и до промена у лабораторијским показатељима, развојем метаболичког синдрома и неминовним развојем кардио оштећење ткива и органа. Ово нежељено десјтво је описано и у званичним сажецима карактеристика лела оланзапин. Комбинација блокаде Н1 хистаминских рецептора и 5НТ 2 с серотонинских рецептора у исто време су повезане са појавом раст тежине . Телесна гојазност позитивно корелира са инсулинском резистенцијом. Краткотрајна (4 недеље) примене оланзапином повећава стомачну гојазност, а она је била повезана са изразито смањеном инсулинском осетљивошћу у јетри, што је уобичајени налаз код

појаве гојазности и дијабетеса типа 2 (100) . На слици бр. 1 приказана су доминантна рецепторна места за лек оланзапин и његове додатне ефекте, осим антипсихотичког.

Слика број 1. Приказ рецепторних места и настанка најчешћих нежељених ефеката примене оланзапина



У ретроспективној анализи 1191 пацијента са дијагнозом шизофреније или шизоафективног поремећаја лечених оланзапином, отприлике 15% испитаника имало је брзу промену $\geq 7\%$ телесне тежине током првих 6 недеља лечења, са просечним повећањем телесне тежине од 1,8 –3,2 кг (око 4% основне телесне тежине) током прве 2 недеље (114). Све већи докази упућују на то да антипсихотици имају већи потенцијал повећања телесне тежине код деце и адолесцената него код одраслих и да млади пацијенти који примају антипсихотике имају повећан ризик од прекомерне тежине или претилости (115). Недавно поређење сакупљених дугорочних студија (средња вредност праћења је била 201 дан) лечених оланзапином, показало је просечно повећање телесне тежине од 4,8 кг код одраслих, али 11,2 кг код адолесцената (116,117). Дебата се наставља у вези са обрнутим односом између почетног индекса телесне масе БМИ и дебљањем изазваним антипсихотцима. Обједињени лонгитудинални подаци код пацијената лечених оланзапином (средња модална доза = 13,3 мг / дан) показали су да је успоравање стопе дебљања примећено после 2-4 месеца лечења и да је највећи раст дебљања за пацијенте евидентан у почетној фази (118, 119).

1.15. Дијабетес и оланзапин

Студијска испитивања указују да након само 6 недеља антипсихотичке терапије 10,1% пацијената развило је дијабетес мелитус (ДМ) ($P = 0,016$) (97, 120). Овакви подаци су препознати и од стране званичног сажетка карактеристика лека за оланзапин, који указује на могућности појаве хипергликемије и последичног дијабетеса (121). Произвођачи у званичном сажетку лека, описују и случајеве са појавом хипергликемије и/или развој или погоршање дијабетеса, што може бити праћено и кетоацидозом или комом, укључујући неколико смртних случајева пројављивани су током извештаја о примени лека. У одређеном броју случајева, пријављен је претходни пораст телесне масе, што указује на могућу законитост и могући фактор предиспозиције. Пацијентима се саветује одговарајуће клиничко праћење, у складу са важећим водичима за примену антипсихотика, нпр. мерење глукозе у крви на почетку лечења, 12 недеља након почетка терапије оланзапином и једном годишње након тога.

Пацијенти без дијагностикованог дијабетеса, а који су на терапији са антипсихотицима, показују знакове хиперсекреције бета ћелија панкреаса и повишене вредности - *GIP* (*glucose-dependent insulinotropic polypeptide*) чиме се погоршава ризик за кардиоваскуларни профил пацијената и указује на потребу раног метаболичног скрининга пацијената (122). Студија на здравим добровољцима показала је да оланзапин смањује инсулинску осетљивост у вези са значајним повишењима постпрандијалног инсулина, пептида 1 сличног глукагону и глукагону уз повећање раста телесне тежине, повећања уноса хране и осећаја глади (123). Ове појаве се повезују са антагонистичким ефектом на М3 и Н1 рецепторима (124). Изгледа да је јачина афинитета везивања за М3 рецепторе предиктор ризика за дијабетес, што се може закључити и из чињенице да су лекови са највећом стопом ризика од појаве метаболичких нежељених ефеката, управо оланзапин и клозапин, који су М3 антагонисти високог афинитета, где је услед блокаде везивања ацетилхолина на М3 рецепторима ћелија панкреаса, долазило до инхибирања ослобађања глукозе из бета ћелија, док генетска модификација М3 рецептора у експериментима на мишевима има значајне ефекте на толеранцију глукозе и лучење инсулина (125).

Појава хипергликемије је доведена у везу са оланзапином, али је ова појава анализирана упоређујући начин и место администрације оланзапина (126,127,128). Оланзапин је показао дозно-зависно ризик за развој од дијабетеса, са повишеним и прогресивним ризиком у односу на остале атипичне антипсихотике (129). Ове студије указују да је ризик од дијабетеса за особе изложене оланзапину, рисперидону и кветиапину зависно од дозе и повећавао се са растом дозе. Као место деловања оланзапина у централном нервном систему дефинисан је хипоталамус, као део мозга који је укључен у регулацију енергетске равнотеже као и хомеостазу глукозе. Циркулишући хормони и храњиве материје делују у хипоталамусу, а нарочито аркуатском језгру (*nucleus arcuate*), ради модулације метаболизма глукозе па је то једно од потенцијалних места на којима оланзапин остварује своје штетне ефекте деловања, делујући антагонистички на допаминске и серотонинске подтипове рецептора карактеристичним за тај део мозга и утицаја на експресију инсулинске резистенције. Акутна примена оланзапина индукује хепатичну инсулинску резистенцију превасходно делујући на регулаторне механизме поспешивањем резистенције у јетри (130). Ове ефекте прати активација хипоталамичке АМПК протеин киназе (*hypothalamic AMP-activated protein kinase*) и развој резистенције на инсулин у јетри активацијом хипоталамичких *NPY/AgRP* неурона који су укључени у контролу хомеостазе глукозе. Ови подаци су у складу са тезом да штетни ефекти

оланзапина на функцију јетре, посредују бар делимично оштећеном хипоталамичком контролом метаболизма јетрене глукозе указујући на то да је хипоталамус циљно место деловања за метаболичку дисрегулацију атипичних антипсихотика (131,132). Експерименталним апликовањем оланзапина у различитим зонама мозга и органа ван ЦНС-а указују и на различите ефекте на метаболизам глукозе. Оланзапин је изазвао брзо и изражено повећање глукозе у крви када се убризгава директно у трећу мождану комору, бочне коморе или орално, али је тај интензитет био најјачи када се лек администрирао у трећу комору, док су промене глукозе у крви биле најмање када је оланзапин примењен оралним интрагастричним путем. Почетне и мање доза у коморама су изазивале хипергликемију, али је за одржавање тог ефекта ипак било потребно применити већу дозу, што указује на чињеницу да је овај ефекат повезан са леком, али и дозно осетљив (133). Са друге стране у истом истраживању се закључује да ови резултати указују на постојање више могућих механизма настанка хипергликемије индуковане оланзапином, при чему је директни ефекат карактеристичан приликом примене лека за деловање у близини треће коморе и хипоталамусом проузрокованим утицајем на ослобађање глукозе из јетре. Индиректни пут развоја хипергликемије приписује се настанку развоја инсулунске резистенције и склоности коришћењу енергије из масних киселина, а не глукозе, па се овај ефекат може објаснити са брзо развијајућом инсулинској резистенцији (100,130,134,135,136). Везано за начин примене оланзапина, у студији у којој је лек администриран оланзапин интрамускуларно у терапији акутне агитације током седам дана примене, нису примећени значајни утицаји на развој и појаву дијабетеса, што је у вези са претходним истраживањем везаним за дозу и дужину експозиције пацијената овом леку. Краткотрајна примена и то интрамускуларно, очигледно нема времена да делује на рецепторна места контроле и доведе до поремећаја гликемије овим путем, што није случај када је у питању дуготрајно излагање леку (137,138,139).

1.16. Метаболички синдром и оланзапин

Инсулинска резистенција, повећање телесне тежине са абдоминалном гојазношћу, смањена толеранција на глукозу, дијабетес мелитус тип 2, дислипидемија, есенцијална хипертензија су карактеристичне појаве и главни дијагностички критеријуми за метаболички синдром и често се дијагностикују код пацијената лечених са атипичним антипсихотикима (37, 140). С обзиром да су хипергликемија и дијабетес део симптома метаболичког синдрома, овом синдрому треба придавати посебну пажњу као веома значајном у процени ризика од кардиоваскуларних обољења, што је и најновијим смерницама Европског удружења кардиолога веома јасно и недвосмислено дефинисано. Метаболички синдром је поремећај који се карактерише скупом симптома/манифестација који повећавају ризик од развоја кардиоваскуларних болести и дијабетес мелитуса типа 2. За постављање дијагнозе овог синдрома, једна од често коришћених смерница, су смернице Америчке асоцијације за болести срца (*American Heart Association*)(141). Дијагноза метаболичког синдрома поставља се ако се утврди постојање три или више ризико фактора, који су наведени у наставку:

1. Централна гојазност за становнике ЕУ (на основу опсега струка): вредности веће од 80 цм за жене и 94 цм за мушкарце
2. Повишене вредности триглицерида: ≥ 150 мг/дл (1.7 ммол/л) или постојање фармаколошког третмана
3. Смањене вредности HDL холестерола : < 40 мг/дл (1.03 ммол/л) код мушкараца и < 50 мг/дл (1.29 ммол/л) код жена или постојање фармаколошког третмана

4. Хипертензија: вредности систолног притиска су ≥ 130 милиметара живиног стуба а вредности дијастолног притиска БП ≥ 85 милиметара живиног стуба или постојање фармаколошког третмана
5. Хипергликемија јутарња из крви: (ФПГ) ≥ 100 мг/дл (5.6 ммол/л) или претходно дијагностиковани ДМ тип 2 дијабетес

Метаболички синдром је главни фактор ризика за кардиоваскуларни ризик код пацијената са шизофренијом, а повезан је са већом смртношћу од кардиоваскуларних и цереброваскуларних болести у поређењу са упоредивом општом популацијом (142). Тешки психијатријски поремећаји (шизофренија, биполарни поремећај, депресивни поремећај, итд.), повезани су са метаболичким синдромима и повећаним кардиоваскуларним ризиком. Присуство метаболичког синдрома код оболелих од шизофреније је евидентно. Према подацима публикованим у студији „CATIE“ (*Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness -CATIE*), преваленца метаболичког синдрома код оболелих од шизофреније је за скоро 47% већа у односу на општу популацију и то код жена за 54,2%, а мушкараца за 36 % (36,37). Обим струка је код жена био увећан за 73,4% а код мушкараца за 36,6%, што заједно указује да је ризик код мушкараца за 138% , а код жена за чак 251% већи код ових пацијената у односу на општу популацију, посебно код оних који су на терапији са антипсихотичким лековима (37).

Јетра је орган који има посебно важну улогу у заштити организма од настанка метаболичког синдрома, па свако њено оштећење додатно повећава опасност од развоја додатних обољења. Преваленција обољења јетре код пацијената са психијатријском болешћу, посебно код оних који су дуготрајно изложени деловању лекова за лечење психијатријских обољења, није до краја позната. Код тешких психијатријских поремећаја (шизофренија, биполарни поремећај, депресивни поремећај, итд.), присуство метаболичког синдрома је повезано са високим кардиоваскуларним ризиком (110, 143). Вишекратно и дуготрајно излагање токсичним супстанцама (алкохол, дуван, итд.), хронични вирусни хепатитис и употреба психотропних лекова и полифармације могу да оптерете функције детоксикације тела. Удружени фактори ризика заједно са метаболичким утицајем могу бити одговорне за велике штетне здравствене последице, које због опште важности јетре, за функционисање организма, превазилазе локална оштећења карактеристична за сам орган (81).

Механизми који стоје иза метаболичких поремећаја изазваних антипсихотичним лековима су још увек до краја нејасни. Клиничке студије сугеришу укључивање више гена, укључујући оне који кодирају хистаминске, α -адренергичке и серотонинске (5-НТ) рецепторе. Међу њима, НТР 2 с рецепторна активност делује у мозгу регулишући унос хране, телесну тежину и метаболизам глукозе (138,144). Блокада НТР2с сигнализације код мишева доводи до хиперфагије и гојазности који подсећају на метаболичке симптоме изазване ААТР-индукованим метаболичким симптомима код људи (145). Сматра се да ефекти оланзапина на хистамин Н1, серотонин 5-НТ2с и мускаринске М3 рецепторе играју централну улогу. Рандомизирана студија са 157 пацијената са шизофренијом током 14 недеља терапије клозапином, халоперидолом, оланзапином или рисперидоном указује да су вредности јутарње глукозе у крви на тесту мереног је на почетку као и у 8 недељи студије значајно разликују (146,147). Средња промена вредности глукозе у односу на почетак је била 14 мг/дл, $P < .02$). Оланзапин је био повезан са повишеним нивоом гликолизираниог хемоглобина -HbA1c. Евидентиран је и директан утицај оланзапина на функцију β -ћелија панкреаса, али се развој дијабетеса повезује с растом телесне тежине са централним адипозитетом и

резултирајући порастом резистенције на инсулин чиме се објашњава развој дијабетеса мелитуса током времена. Користећи базу података о нежељеним догађајима Агенције за храну и лекове УСА (FDA), ризик од дијабетес мелитуса повећан је за оланзапин, рисперидон, клозапин и кветиапин, док је смањен ризик за халоперидол, арипипразол и зипрасидон (146).

И типични и атипични антипсихотици могу изазвати значајно повећање холестерола, триглицерида и липопротеина холестерола ниске густине. Ризик од хиперлипидемије разликује се код појединих антипсихотика. Ризик од хиперлипидемије изгледа већи код пацијената који су на лечењу клозапином и оланзапином, посебно код млађих пацијената(149). Оланзапин, али не и зипрасидон, значајно повећава укупни холестерол и холестеролске липопротеине ниске густине (LDL) током шестомесечне примене ($P = 0.03$ и $P = 0.04$) (150). Оланзапин повећава липогенезу, смањује липолизу и појачава антилипидичке ефекте инсулина у адипоцитима (151,152). Оланзапин је лек са могућим највећим потенцијалом за развој метаболичког синдрома у односу на остале антипсихотичке лекове.

Антипсихотици резултирају различитим ризиком за развој метаболичког синдрома, а скала ризика је : оланзапин (однос коефицијента ($OR = 3,36$, $P < 0,001$) > кветиапин ($OR = 3,29$, $P < 0,001$) > перфеназин ($OR = 2.73$, $P = .007$) > рисперидон ($OR = 2.21$, $P = .02$) > арипипразол ($OR = 1.74$, $P = .15$) \approx халоперидол ($OR = 1.75$, $P = .22$) \approx зипрасидон ($OR = 1$) (153). Ови резултати, са сличним показатељима ризика у истој студији, показали су се и за раст телесне тежине, крвног притиска, глукозе и триглицерида.

1.17. Оланзапин и оксидативни стрес

Оксидативни стрес је резултат немогућности тела да у потпуности неутралише створене слободне радикале нормалним метаболичким процесима. Тај процес може довести до оштећења ћелијске мембране и ослабљене неуротрансмисије, као последица развоја запаљенских реакција и последица. Позната је веза између оксидативног стреса у патогенези настанка шизофреније (154,155). Осим шизофреније постоје студије које указују да је оксидативни стрес укључен у патофизиологију биполарног поремећаја и других психијатријских поремећаја (156). Код оболелих од шизофреније се евидентирају смањени нивои неких од антиоксидативних ензимских система заштите, као што је ниво глутатиона у мозгу и церебралној течности. Једна од значајних теорема о настанку шизофреније повезује нефункционисање антиоксидантног система одбране и негативном одговору на оксидативни стрес, на што указују закључци мета-анализа у којима се види веза између смањење нивоа антиоксидантног ензимског система заштите супероксид дисмутазе у еритроцитима оболелих током болести, што имплицира да би овакви показатељи могли бити и прогностички значајни за диферцијалну дијагностику шизофреније (157). Оксидативни стрес треба посматрати веома озбиљно у патогенези шизофреније и њене прогресије, како од развоја неуралних путева и конекција, тако и у функционисању неуротрансмисоних активности. Оболели од шизофреније услед нагомилавања штетних ефеката оксидативног стреса, могу имати оштећени и ослабљени процес неуротрансмисије, интернеуронска функција слаби, а синхронизација кортикалних активности је у опадању. Епидемиолошке студије су показале постојање утицаја имунолошког одговора као и повезаности између пренаталне изложености инфекцијама и каснијег развоја шизофреније. Видљиве су промене у нивоима цитокина (сигнални молекули који координирају инфламацију

одговор), повишен ниво аутоантитела и асоцијације између аутоимуних поремећаја и ризик за шизофренију (158,159). Неки анти инфламаторни лекови могу појачати антипсихотички одговор и побољшати стање психотичних симптома у рандомизираним контролисаним испитивањима (160). Примена антивирусног лека валацикловир у лечењу инфекције херпес симплекс је доводила до когнитивних побољшања код пацијената оболелих од шизофреније, што указује на могућу везу болести са запаљењем (161). Проблематика учешћа имунолошког одговора у настанку и развоју шизофреније је обећавајућа, али има и доста лимитирајућих фактора услед мултипотентности осталих фактора ризика који могу да интерферирају са активношћу имунолошког система. Реакција на линији оксидативни стрес и психитички напад су повезани са смањењем нивоу кортизола и контроли активности на оси хипоталамус-хипофиза-надбубрежна жлезда (162). Из наведеног је логичан закључак да је лечење психотичних поремећаја пожељно да буде комбиновано и адекватним антиоксидативним деловањем, идеално ако се та активност може наћи у истом леку.

Оксидативна оштећења код шизофреније могу се променити применом антипсихотика, али та промена није нужно позитивна, с обзиром да неки антипсихотични лекови могу да стимулишу прооксидативне догађаје (163). Мишљења су опречна. Халоперидол индукује пероксидацију липида код шизофрених пацијената (164). Нема значајних разлика у настанку оксидативног стреса (мерењем маркера стреса) између типичних и атипичних антипсихотика који се примењују током прве епизоде шизофреније, чак је дошло до смањења упалног процеса уз мање смањење оксидативног процеса. Међутим исти аутори су указали на чињеницу да се хроничном употребом антипсихотика, оксидативни стрес погоршава и да је њихов оксидациони потенцијал велики (165). Атипични антипсихотици могу побољшати оксидативни статус, смањујући маркере оштећења у možданом ткиву (166). Потенцира се важност „локалног антиоксидативног деловања“ атипичних антипсихотика, због њихове веће локалне концентрације у близини рецептора допамина и серотонина. Овакво понашање би резултирало заштитним антиоксидативним ефектом самих рецептора, омогућавајући тако правилно функционисање и сигнализацију рецептора (167). Међутим, треба размишљати о томе да антипсихотички лек може имати двојако и опречно дејство на оксидационе процесе и антиоксидациону заштиту. Упоредивање редокс статус ткива јетре и možданих региона (префронтални кортекс, хипокампус и малог мозга) који је испровоциран етанолом, после примене кветиапина, показала је да у možданој регији лек има антиоксидациони потенцијал, за разлику од јетре где је дошло до смањења активности глутатион-пероксидазе и укупног антиоксидативног капацитета, указујући на непостојање заштитног ефекта лека на ткиво јетре (168).

Оланзапин се добрим делом метаболише преко јетре и његово дејство на овај орган се помно проучава, имајући у виду уобичајено дуготрајно коришћење лека у терапији шизофреније (169). Забележени су случајеви озбиљне хепатотоксичности и повишене вредности јетрених ензима код пацијената који су примали оланзапин (170). Међутим, ћелијски и молекуларни механизми хепатотоксичности оланзапина нису до краја познати, а у литератури су утицаји оланзапина на оксидативни стрес контроверзни. Атипични антипсихотици делују индиректно антиоксидансно повећавајући концентрацију серотонергичног метаболита (*malondialdehyde*) сирћетне киселине, ефикасног јаког чистача хидроксилних и супероксидних радикала (171). Оланзапин може да стимулише производњу РОС-а, смањује вредности глутатиона и пероксидацију липида (172). Са друге стране постоје докази који показују да оланзапин остварује своје антиоксидативно деловање повећавањем ензима СОД – содијум дисмутазе (173). Међутим, већина истраживача закључује да је лек заправо снажан

индуктор оксидативног стреса (174,175). Третман оланзапином изазива снажно повећање ослобађања супероксидног радикала, H_2O_2 радикала и азот оксида (176). Висока продукција наведених слободних радикала, повезана је са појачаном пероксидацијом и оштећењем ћелијских мембрана које су мерене мерене као ТБАРС (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). Оланзапин је показао свој снажни оксидативни потенцијал, али уз назнаку да је начин примене лека током испитивања био интраперитонеални, с обзиром да се ради о експерименту на животињама. Оланзапин дефинитивно може да индукује и покрене патолошке механизме везане за производњу слободних радикала (177). Значај наведених испитивања је важан у томе што се поред доказаног про оксидативног деловања оланзапина, показани могући антиоксидантни потенцијали заштите применом одређених додатака исхрани или измена у режиму исхране у покушају да контролишу овај снажни оксидативни потенцијал лека. Имајући у виду да психијатријски поремећаји често подразумевају гојазност и повећани индекс телесне масе, чини се да је употреба специјално припремљених ниско калоријских дијета богатих антиоксидативним додацима исхране, логичан терапијски избор за ове пацијенте.

1.18. Биохемијске анализе и оланзапин

Оланзапин доводи до раста тежине и дебљања, као и развоја хипергликемије, хиперинсулинемије, резистенције на инсулин, хиперлипидемије и стварање запаљенског процеса. Сви ови процеси који су изазвани оланзапином праћени су смањењем деловања у јетри АКТ и АМП-активирани протеинске киназе (*AKT and AMP-activated Protein Kinase*-АМПК), порастом серумског интерлеукин-6 (IL-6), као и исцрпљивањем вредности хрома у ткиву (178). Праћење и надзор над овим биохемијским параметрима, током терапије са оланзапином је логично и оправдано. Оланзапин има утицаја на функцију јетре. Примећени су пролазни, асимптоматски пораст вредности аминотрансфераза јетре, АЛТ, АСТ у крви, поготову у раној фази лечења. Потребан је опрез и контрола код пацијената који имају повишену концентрацију АЛТ и/или АСТ, код пацијената који имају знаке и симптоме оштећења јетре, код пацијената са претходно постојећим стањима повезаним са ограниченом функционалном резервом јетре и код пацијената који су лечени потенцијално хепатотоксичним лековима. У случају ако се дијагностикује хепатитис (укључујући хепатоцелуларно, холестатско или мешовито оштећење јетре), терапију оланзапином треба обуставити.

1.19. Кардиометаболочки надзор код пацијената са оланзапином

Пацијенти са тешким психијатријским поремећајима и антипсихотском терапијом изложени су повећаном ризику од кардиоваскуларних болести, мада се неки од ових ризика могу повезати са психијатријским обољењима или начином живота. Повећање телесне тежине, гојазност, метаболички и кардиоваскуларни поремећаји код пацијената са шизофренијом и другим менталним поремећајима повезани су са низом негативних физичких и психијатријских исхода, повезаних са лечењем (179). На слици број 2 приказане су последице примене антипсихотичких лекова на развој метаболичких компликација и сходно студијским резултатима приказани и у процентима видљив је скоро дупли раст процента оболелих од метаболичког синдрома код пацијената пре и после третмана са атипичним антипсихотичким лековима. Због тога се телесна тежина и повезани метаболички индекси, као и биохемијске анализе рутински надгледају код пацијената на терапији са оланзапином (180, 181).

Слика број 2. Приказ појаве метаболичких компликација исказаних у процентима сходно резултатима истраживања на студијскох популацији (180)



Резултати праћења терапије током 12 месеци надзора над пацијентима са шизофренијом у Великој Британији показује да је само 33% учесника имало свеобухватно праћење пет главних кардиометаболичких фактора ризика за здравље (пушење, БМИ, контрола глукозе у крви, липиди у крви и крвни притисак), док је 53% оболелих имало само по један преглед годишње индекса телсне масе (БМИ), а од 56% оболелих само једном годишње контролу глукозе у крви. Све наведено указује на велики степен занемаривања проблема код ове веома вулнерабилне групе пацијената (182).

1.20. Неалкохолна масна дегенерација јетре (NAFLD)

Неалкохолна болест масне јетре (*Non alcoholic fatty liver disease -NAFLD*) је велики здравствени проблем који се манифестује тихо и коме се очигледно не придаје довољна пажња, иако ова болест погађа 20% -30% одрасле популације у развијеном свету (183,184). Спектар поремећаја манифестних за овај проблем се крећу од основних масних промена у јетри, преко манифестног безалкохолног стеатохепатитиса са порастом фиброза која доводи до цирозе (185). Преваленца НАФЛД алармантно расте широм света како код одраслих, тако и код адолесцентне популације, уз јасну повезаност између манифестација НАФЛД и метаболичким синдром (186). Болест уобичајено креће као безалкохолни стеатохепатитис и уколико се фактори ризика не промене, временом прелази у синдром масне јетру са знаковима запаљења - хепатитисом. Сигурно је да овако велики раст овог обољења можемо повезати и са промењеним животним навикама модерног човека. Седатерни начин живота, превише

времена које се проводи без физичке активности, као претерани унос хране, узимају свој данак. Србија је земља у којој је преко 37 % популације предгојазно или гојазно (187). Посебно забрињава чињеница да је овај проблем све више заступљен код млађе популације. Смањена физичка активност и промена типа послова које су данас доминантно обављају а везане су за вишесатно седење у затвореном простору, сигурно је да значајан утицај имају и глобалне промене прехранбених навика. Могуће компликације овог стања су у почетку развој фиброзе ткива (20% до 50%), цироза јетре (око 30%), док се као најтежи облик компликација болести настанак хепатоцелуларног карцинома (око 5% оболелих) (188,189). Једно је сигурно, заједнички именовани који повезују НАФЛД и метаболички синдром чине гојазност, резистенција на инсулин, дијабетес мелитус типа 2 и дислипидемија, који уједно чине и најважније метаболичке предуслове за настанак и развој ових болести.

Метаболички синдром има широк клинички спектар препознавања у коме се појава НАФЛД најчешће дефинише као умерено тешко стање. Гојазност, резистенција на инсулин и дијабетес мелитус типа 2 (Т2ДМ) главни су фактори који доприносе развоју НАФЛД. Поред стандардних фактора ризика везаних за начин живота и не придржавања основних начела хигијенско дијететских принципа исхране и живота, све је више присутна чињеница о потенцијалним факторима ризика за настанак НАФЛД после примене одређених лекова (190, 191).

1.21. Дијагностички критеријуми

Терапеутске препоруке за дијагностиковање НАФЛД су обрађене од стране више еминентних стручних организација и удружења.

- EASL: European Association for the Study of the Liver;
- NICE: National Institute for Health and Care Excellence;
- AISF: Italian Association for the study of the Liver;
- AASLD: American Association for the Study of Liver Diseases;

Заједнички закључак свих стручних удружења је да су кључне карактеристике НАФЛД састоје из манифестација (192, 193,194):

- Евидентирање ексцезивне акумулације масти у хепатоцитима ткива јетре (дијагностиковано патохистолошки или неинвазивним техникама прегледа)
- Одсуство секундарних узрочника за акумулацију масти у јетри
- Инсулинска резистенција и евидентирање поремећаја у метаболизму глукозе
- Не постојање манифестне навике у конзумирању алкохола (мање од 30 гр дневно за мушкарце и мање од 20 гр дневно за жене)

Иако постоје неслагања у смислу дефинисања потребе за применом рутинских скрининг техника, присуство гојазности, метаболичког синдрома, дијабетеса тип 2, евидентирање повећања вредности јетриних ензима су уобичајени симптоми, болести и манифестације које са високим процентом повезаности указују на присуство масних поремећаја јетре, па се из наведених разлога користе као део рутинских претрага током утврђивања дијагнозе НАФЛД различитог степена (195). Ултразвучни преглед абдомена и јетре у комбинацији са лабораторијским претрагама, као и евидентирањем симптома наведених болести и стања су по правили довољни за успостављање дијагнозе

НАФЛД. Међутим, ефикасност и осетљивост коришћења ултразвучног прегледа међу морбидно гојазним пацијентима (БМИ > 40 кг / м²) је ниска и код ових особа се може десити да се дијагноза не постави иако је садржај масти у јетри < 20% (196). NICE (*National Institute for Health and Care Excellence-UK*) смернице предлажу коришћење ултразвука јетре за откривање стеатозе јетре код деце са метаболичким синдромом и дијабетесом типа 2 (193).

Када су лабораторијске претраге у питању, иако су карактеристичне за НАФЛД, појаве пораста нивоа јетриних ензима (аспартат аминотрансферазе (АСТ) или аланин аминотрансфераза (АЛТ) или гама-глутамилтранспептидаза (Гама-ГТ)), све терапијско дијагностичке смернице указују да њихово повећање указује на сумњу на постојање проблема, али је закључак да нису уско специфични са постављање дијагнозе НАФЛД, јер њихове нормалне вредности не искључују постојање НАФЛД, а повишене вредности могу бити карактеристичне и за друга обољења (194). Слични закључци се односе и на откривање абнормалности лабораторијских прегледа (попут феритина или аутоантитела) (197). Лабораторијске показатеље јетриних ензима, самостално или заједно са осталим биохемијским параметрима и дијагностичким процедурама треба посматрати као саставни део дијагностичког процеса.

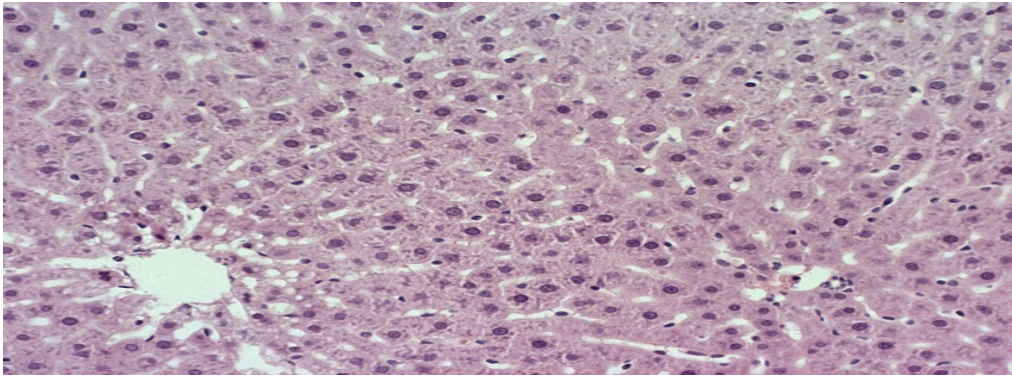
С обзиром је постављање дијагнозе НАФЛД мултифакторијално, у оптицају су и коришћења одређених индекса за калкулацију процене присуства стеатозе и које су подржане од стране референтних терапијских водича. Релативно често коришћене су индекс процене масне јетре (*Fatty Liver Index-FLI*) и процена масти у јетри код не алкохолне масне јетре (*NAFLD liver fat score*) (198,199). ФЛИ индекс се прорачунава на основу поређења нивоа серумских триглицерида, индекса телесне масе, обима струка, као и вредности гама-глутамилтрансфераза. НАФЛД индекс масти у јетри израчунава се проценом присуства/одсуства метаболичког синдрома и тип 2 дијабетеса, серумски повишених вредности инсулина и ензима јетре аминотрансфераза. Америчке смернице (*American Association for the Study of Liver Diseases*) указују да треба пратити паралелно више различитих предиктора заједно са метаболичким синдромом и да је такав приступ веома квалитетан предиктор развоја масне болести јетре и потенцијалних компликација (194).

На основу наведеног, јасно је да су закључци свих смерница такву да су сагласни да не постоји специфичан и једноставан тест за откривање НАФЛД и НАСХ и њихово међусобно разликовање, тако да је остало да је и даље златни стандард за постављање дефинитивне дијагнозе ових болести могућа једино на основу биопсије ткива јетре (194).

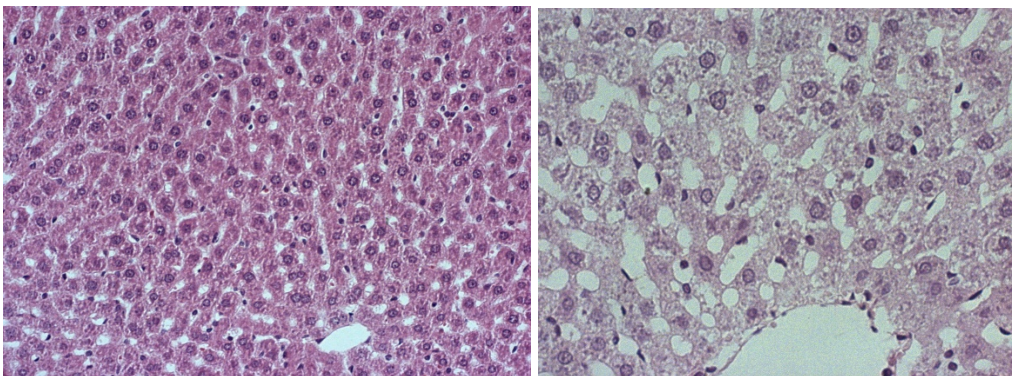
Не алкохолна масна јетра (НАФЛД), сходно препорукама, карактерише се минималним знацима запаљења са инфилтратом без балониране дегенерације хепатоцита. Хепатоцити су увећани, видљиво препуњени са мастима. Са друге стране манифестни стеатохепатитис (НАСХ) – (*non-alcoholic steatohepatitis - NASH*) је повезан са знацима лобуларне инфламације и видљивим инфилтратима, као и манифестним знацима балониране дегенерације хепатоцита, са могућношћу дифузног ширења запаљења и развоја фиброзових промена.

На слици број 3 у подваријантама од а до ц, приказани су репрезентативни примери различитих патохистолошких манифестација НАФЛД из архиве истраживања.

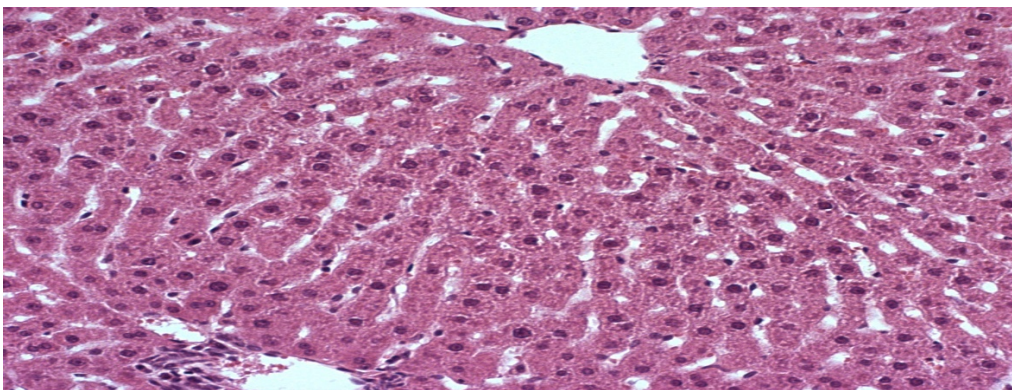
Слика број 3 а. Приказ масних промена у ткиву јетре



Слика бр 3 б. Приказ балониране дегенерације хепатоцита и балониране ћелије



Слика 3 ц .Запаљенска инфилтрација



1.22. НАФЛД и антипсихотички лекови

Иако је НАФЛД прихваћен као јасна компонента метаболичког синдрома, само његово присуство представља кардиоваскуларни фактор ризика независно од класичних фактора ризика као што су инсулинска резистенција или гојазност (200). Масна јетра проузрокована применом лекова карактерише се благим до умерено повишеним вредностима серумских ензима, уз по правилу доказаним постојањем

позитивних налаза приликом ултразвучног прегледа или ређе биопсије јетре. Клиничка симптоматологија је углавном одсутна или су манифестације благе и неспецифичне. Пацијенти са шизофренијом 4,42 пута чешће оболевају од НАФЛД јетре (201). Студијска испитивања су показала да пацијенти са шизофренијом који примају антипсихотике имају врло високу инциденцу метаболичког синдрома, док преваленца овог синдрома варира у широком опсегу од 14,7% до 69,3%, односно разлика је 46,7% (202). У друштвима ван Европе и УСА, инциденција је достигла 20 % појаве метаболичког синдрома након само једне године лечења уз примену атипичних антипсихотика, а у Кини до 40,3% код жена и до 51,2% код мушкараца (203, 204). Повећање телесне тежине је уобичајени нежељени ефекат примене атипичних антипсихотика и уобичајено се дешава код 50% пацијената који су имали дуготрајни третман шизофреније (205). Током 16 недеља примене клозапина евидентирано је да је 38 % пацијената имало изразито повећање телесне тежине а 29% умерени раст. Током примене рисперидона код деце са психотичним поремећајима, пријављена је гојазност, појава абнормалности јетрених ензима и потврђена је дијагноза масне јетре код 2 од 13 пацијената (206). Студија на 25 деце са присутним развојним поремећајем, потврдила је да је оланзапин (10,7 мг / дан) индуковао просечно повећање телесне тежине од 4,7 кг после 12 недеља лечења, повећавајући за око 10% телесну тежину (207).

1.23. Омега масне киселине

Омега-3 и омега-6 масне киселине играју важну улогу у очувању здрављу и превенцији настанка болести код човека. Сматрају се есенцијалним, јер се не могу синтетисати у организму, па се из тог разлога морају уносити путем исхране. Омега-6 масне киселине дугог ланца укључују линолну, гама-линоленску и арахидонску киселину. Омега-3 масне киселине укључују алфа-линоленску киселину дугог ланца (АЛА), еикосапентаенску киселину (ЕПА) и докозахексаенску киселину (ДХА) (208). ЕПА и ДХА се често називају омега-3 масним киселинама веома дугог ланца. Типична исхрана карактеристична за земље западног света богата је омега-6 масним киселинама због обиља линолне киселине која се налази у кукурузном, сунцокретовом и шафранском уљу (209). Супротно томе, омега-3 масне киселине чине само мали проценат дневног уноса масних масти и добијају се из два главна исхрана - биљака и риба (210, 211). Најконцентрисанији извор хране ЕПА и ДХА су масне рибе, попут туњевине туне, лососа, скуше, сардине и харинге (212, 213, 214). Алфа липочна киселина се може претворити у ЕПА, а затим у ДХА, али је та конверзија (која се јавља првенствено у јетри) врло ограничена - приближно 15%, што је један од кључних разлога потребе конзумирања ЕПА и ДХА директно из хране и/или из додатака прехране (215).

Након уноса у форми хране, омега масти се хидролизирају у цревном лумену. Производи хидролизе - моноглицериди и слободне масне киселине се уграђују у мицеле жучних соли, да би се процесом пасивне дифузије унели у ентероците. Процес је ефикасан (стопа апсорпције је око 95%) (216). У ентероцитима слободне масне киселине се уграђују у хиломикроне и улазе у циркулацију путем лимфног система (214). Једном у крвотоку, липопротеинске честице циркулишу у телу, испоручујући липиде различитим органима за накнадну оксидацију, метаболизам или складиштење у масном ткиву (217,218). Препознатљиво обележје за групу полузасићених масних киселина, омега-3 (ω -3 or n-3) представља њихов карактеристични опис (*PUFAs*), где

положај 3 означава место двоструке везе која је најближа метил крају ацилног ланца свих масних киселина. Наједноставнија n-3 масна киселина је алфа-линоленска киселина (18:3n-3). Алфа-линоленска киселина се синтетише из n-6 линолеинске киселине n-6 (18:2n-6) десатурацијом, а катализује се помоћу ензима делта-15 десатураза (*delta-15 desaturase*). Животиње, укључујући људе, не поседују ензим делта-15 десатураза и тако не могу да синтетишу а-линоленску киселину. Супротно томе, биљке поседују делта-15 десатуразу и тако су у стању да синтетишу а-линоленску киселину. Иако животиње не могу да синтетишу а-линоленску киселину, оне могу да је метаболишу даљом десатурацијом и овај процес се углавном обавља у јетри. Као што је приказано на графику број 1 а-линоленска киселина се може претворити у стеаридонску киселина (18: 4n-3) делта-6 десатуразом, а затим стеаридонска киселина се може издужити до еикосатетраеноичне киселине (20:4n-3), који се може даље десатурати делта-5 десатуразом и даје еикозапентаенску киселину (20:5n-3; позната као ЕПА). Важно је напоменути да је конверзија а-линоленске киселине у ЕПА у конкуренцији са конверзијом линолне киселина до арахидонске киселине (20:4n-6) с обзиром на исте ензиме који се користе. Брзина реакције делта-6 десатуразе реакција је ограничавајућа на овом путу. Пожељни супстрат за делта-6 десатураза је а-линоленска киселина. Међутим, линолеична киселина је много више присутна у људској исхрани него што је унос а-линоленске киселина, па метаболизам n-6 масних киселина квантитативно важније. Активности делта-6 и делта-5 десатуразе су регулисане храњивим материјама- стања, хормони и инхибиција повратних информација до краја производи.

Алфа линоленска киселина се обилато налази у неким биљкама са зеленим лишћем, биљним уљима, орашастим плодовима и семенкама (220). Главна извор у уобичајеној исхрани је n-6 линолеинска киселина која се конзумира 5 до 20 пута више од алфа-линоленске киселине.

1.24. Значај омега 3 масних киселина и њихово протективно деловање

Омега-3 играју важну улогу у организму као компоненте фосфолипида који формирају структуре ћелијских мембрана (218). ДХА је нарочито висок у мрежњачи ока, мозгу и сперми (217,221). Поред структуралне улоге у ћелијским мембранама, омега-3 (заједно са омега-6) обезбеђују енергију за тело и имају важну улогу у формирању еикосаноида, сигналних молекула који имају сличну хемијску структуру као и масне киселине из којих су изведени. Еикосаноиди направљени од омега-6 су углавном јачи посредници упале, вазоконстрикције и агрегације тромбоцита него они из омега-3 (216, 217, 218, 222). Обе класе масних киселина такмиче за исте ензиме десатурације. Алфа липоична киселина је конкурентни инхибитор метаболизма линолне киселине и обрнуто (223), док се ЕПА и ДХА надмећу са арахидонском киселином за синтезу еикосаноида. Стога, веће концентрације ЕПА и ДХА у односу на арахидонску киселину усмеравају еикосаноидни баланс према мање упалној активности (224). Конурисање омега-3 масних киселина за уградњу у ћелијске мембране са омега-6 масним киселинама доводи до спречавања нагомилавања проинфламаторних посредника као што су тромбокساني, простагландини и леукотриене који настају преко циклооксигеназних и 5-липоксигеназних путева (212). Ову активност, омега-3 масне киселине обављају подстицањем излучивања противупалних простагландина и леукотриена, што резултира квалитетном антизапаљенском активношћу. Ови запаљенски и антизапаљенски ефекти представљају примарну фармаколошку разлику између омега- 6 и омега-3 масних киселина и дефинишу њихове

могуће терапеутске улоге. Однос уноса омега 6 и омега 3 масних киселина могао би да има утицаја на развој или контролу хроничних болести, али тај однос никада није јасно дефинисан, па се може закључити да је повећање уноса ЕПА и ДХА важније од конкуренције са снижавањем нивоа арахидонске и линолеинске киселине (225, 226).

1.25. Препоручени унос омега 3 масних киселина и индикациона подручја

Унос омега 3 масних киселина је есенцијална потреба, како за одрасле, тако и децу. Декларисане су повећане потребе код трудница и дојиља, па су самим тим и установљене вредности препорученог уноса у здравој популацији. У табели број 3 приказане су препоручене дневне потребе за омега 3 масним киселинама, сходно годинама живота и полу (220).

Табела број 3. Приказ препорученог уноса Омега 3

Године	Мушкарци	Жене	Трудноћа	Дојење
Од рођења до 6 мес.	0.5 g	0.5 g		
7–12 месеци	0.5 g	0.5 g		
1–3 године	0.7 g	0.7 g		
4–8 године	0.9 g	0.9 g		
9–13 године	1.2 g	1.0 g		
14–18 године	1.6 g	1.1 g	1.4 g	1.3 g
19–50 године	1.6 g	1.1 g	1.4 g	1.3 g
51+	1.6 g	1.1 g		

Омега-3 масне киселине са дужим ланцем имају добро описане ефекте на различите факторе ризика за кардиоваскуларне болести, посебно оне који су повезани за хиперлипидемијским стањима у којима доминирају повећане вредности триглицерида. Америчко удружење за срце препоручује примену ЕПА И ДХА пацијентима са коронарном срчаном болешћу и хипертриглицеридемијом где се од стране ААЦЕ (*American Association of Clinical Endocrinologists*), препоручује примену од 2 гр до 4 гр дневно код пацијената који имају повећане вредности триглицерида (227, 228). Код пацијената са дијабетесом и нерегулисаним дислипидемијом, где је хипертриглицеридемија манифестна, од стране Европског удружења кардиолога, дефинисана је препорука примена више од 4 гр дневно (229, 230) . Опсервационе студије праћења су доказале позитивност препорука, да је унос рибе (најмање два пута недељно) и н-3 масних киселина дугих ланаца додаци у малој дози, позитиван и да може смањити ризик од смрти код кардиоваскуларних болести и мождани удар у примарној превенцији, али нема доказаних већих ефеката на плазму метаболизам липопротеина (231). Фармаколошке дозе н-3 масних киселина (2–3 г/дан) смањују ниво триглицерида до 30%, али већа доза може повећати вредности LDL-с. Америчка асоцијација за срце (*American Heart Association*) препоручује да се ЕПА плус ДХА, у форми додатака исхрани, користе код пацијената са хипертриглицеридемијом, али дневна доза не би смела да буде већа од 3 г / дан од без надзора лекара (214). Алфа-линоленска киселина је мање ефикасна за снижавање ниво триглицерида (232) .

Поред доказаног антизапаљенског деловања, омега-3 масне киселине са дужим ланцем имају добро описане ефекте на различите факторе ризика за развој кардиоваскуларних болести (233). Епидемиолошке и клиничке студије подржавају кардиоваскуларне предности ЕПА и ДХА, а као доказани механизми деловања за кардиопротективне ефекте омега-3 масних киселина убрајају се (234):

1. Смањење нивоа триглицерида
2. Смањење атеросклеротских плакова
3. Потенцијална антиаритмијска, анти тромботска и антизапаљенска дејства
4. Снижавање систолног и дијастолног крвног притиска
5. Побољшање ендотелне функције.

Све у свему, доминантно познате и препознатљиво раширене области за коришћење омега масних киселина су везане за превенцију кардиоваскуларна обољења у различитим фазама њихових манифестација као и код помоћи у лечењу.

1.26. Омега масне киселине и психијатријска обољења

Фосфолипидна хипотеза о настанку шизофреније, коју је првобитно развио Давид Хоробин (*Horrobin DF*) са сарадницима, повезивала је настанак менталних проблема са постојањем абнормалности фосфолипидне структуре мембране неурона (235,236). Пошто су омега полунезасићене масне киселине главне структурне компоненте ћелијске фосфолипидне мембране, логичан је интерес и истраживачка усредсређеност на могућу улогу ових масних киселина у менталном здрављу. ЕПА, није присутна у ћелијској мембрани. ДХА је главна омега-3 полинезасићена масна киселина у фосфолипидној мембрани неуронских ћелија (237). Због тога ДХА и ЕПА имају различите физиолошке ефекте на функцију неурона. Постоје докази да је промена ДХА садржаја на мембрани неуронских ћелија може изменити густину допаминских, серотонинских и мускаринских рецептора у мозгу (238). ЕПА може утицати на функцију неурона јер је важан прекурсор еикосаноида и модулатор цитокина који имају неуротрансмитер и неуромодулаторне ефекте (239).

Омега 3 масне киселине могу да модификују експресију гена, укључујући неколико гена који су важни за функција мозга (240). Дугорочни мањак омега-3 масних киселина током интраутериног живота доводи до експресија гена за рецептор допамина у потомству (241). Шизофрени пацијенти имају смањени ниво полинезасићених масних киселина у ћелијској мембрани, нарочито ДХА и арахидонска киселине (242) мада овакве показатеље треба узети у обзир са одређеним опрезом, с обзиром да је могући утицај пушења дувана, за које се зна да доводе до смањеног нивоа омега киселина у мембранама црвених крвних зрнаца и чије вредности корелирају са њиховим вредностима у мозгу. Овај податак има свој значај с обзиром да је познато да проценат пушача код пацијаната са шизофренијом значајно већи (243).

Когнитивно оштећење је снажно повезано са функционалним исходом код пацијаната са шизофренијом, али његова патофизиологија остаје у великој мери нејасна. Примена омега-3 масних киселина у очувању когнитивних функција здравих појединаца али и пацијаната са неуропсихијатријским болестима привлачи све већу пажњу. У студији са 30 пацијаната са шизофренијом или шизоафективним поремећајем, праћене су вредности омега 3 масних киселина (ЕПА и ДХА) са проценом интензитета психијатријских симптома, когнитивне функције и социјалне функције процењене коришћењем скале позитивног и негативног синдрома, кратке процене

когниције код шизофреније (БАЦС) и скале друштвеног функционисања (СФС). Резултати БАЦС-а теста био је значајно повезан са нивоом еикосапентаенојске киселине у крви (ЕПА) и докозахексаенске киселине (ДХА) уз евидентирања коришћења већих доза антипсихотика. На крају, резултати ове студије показују да је смањење нивоа омега-3 масних киселина у крви повезано са оштећењем когнитивних функција, које потом утичу на резултате друштвеног функционисања код оболелих од шизофреније (244).

Примена комбинације ДХА и ЕПА помаже у терапији поремећаја пажње / хиперактивности (АД / ХД), аутизму, диспраксији, дислексији и агесија, а мета-анализе потврђују користи код депресије, биполарног поремећаја и шизофреније (245). Убрзани когнитивни пад и благо оштећење когнитивних функција корелирају са сниженим нивоима ДХА / ЕПА у ткиву, а суплементација побољшава когнитивне функције.

Мета анализом 26 студија показало се да је за 17 % нижи ризик од депресије код особа који имају већи унос рибе путем хране (246), али је прегледом Кохранове базе података (*Cochrane review*) и анализом ових студија, закључено да нема довољно јасних показатеља да ли су омега-3 масне киселине у уносу од 1 – 6,6 гр дневно корисни за помоћ у терапији депресивних поремећаја код одраслих (247). Аутори су нашли мали до скромни благотворни ефекат на депресивне симптоме.

1.27. Оксидациони стрес и омега 3 масне киселине

Психијатријски поремећаји често подразумевају гојазност и повећани индекс телесне масе, па адекватни унос хране богате антиоксидансним супстацама може бити логичан терапијски избор за ове пацијенте. Омега-3 полинезасићене масне киселине (n-3 ПУФА) кључне за одржавање функционалног интегритета централног нервног система (248). Анти-оксидативна својства омега-3 масних киселина су документована у различитим истраживачким моделима на животињама и људима (249). Омега-3 масне киселине показују позитиван утицај на метаболизам липида код пацијената са шизофренијом и гојазношћу, али темељне механизме тек треба разјаснити (250). Међутим, нема довољно података да ли омега масне киселине утичу на реактивне врсте кисеоника и мењају редокс статус у тим условима. Омега мансе киселине остварују благотворне ефекте на možдано ткиво. Оне повећавају активност антиоксидативног система заштите СОД-(содијум дисмутаза) и смањују пероксидацију липида, а ове промене у оксидативној / антиоксидативној равнотежи резултат су ЕПА и ДХА ефеката на липиде и ензиме антиоксидативног система (251). Комбинована примена омега-3 масних киселина и антиоксиданских витамина током 16 недељног лечења шизофреније, показала је смањење симптома психозе и њене боље контроле, посебно код пацијената који су имали доказано низак ново омега 3 масних киселина у еритроцитима (252). Додавање омега 3 масних киселина у у исхрани у дозама од 2 грама дневно побољшава симптоматске исходе код психотичких обољења, захваљујући благотворним ефектима које овај неуропротективни суплемент има на различите процесе мозга који су поремећени. Они су посебно евидентни у првим епизодама психотичких напада, укључујући позитивне утицаје на оксидативни стрес, неурозапаљенске процесе, процесе преноса неуротрансмитера и процес неуросинаптичке пластичности (253). Овај ефекат се показао као значајан у првих 6 недеља примене, али се губио након 12 недеља трајања болести, иако су учесници који

су добијали омега масне киселине (ЕПА) евидентно примали до 20% ниже дозе антипсихотика.

Неуроимагинг студије указују на значајно повећање неуропротективних метаболита глутатиона као маркера мозга који смањује оксидативни стрес и неурална оштећења након омега 3 суплементације (254). Побољшање стања неурона хипокампадне регије и повећане концентрације глутатиона су били у корелацији са смањењем негативних симптома шизофреније, укупне симптоме, депресију и функционисање после примене 2,2 мг омега-3 дневно (које садржи 1320 мг ЕПА плус 880 мг докозахексаеноична киселина (ДХА) и који се користио као додатак почетном антипсихотичком третману, током периода од 26 недеља код 71 пацијента са симптомима почетне психозе (255). Анализом добијених резултата исте студије указују да омега 3 изазива смањење оксидативног стреса смањењем његових маркера у плазми „8-изопростан $\Phi 2\alpha$ “ и повећањем укупног антиоксидативног капацитета у плазми уз евидентно смањење укупних психијатријских симптома (256) .

1.28. Омега 3 масне киселине и антипсихотички лекови

Све је више доказа да омега-3 масне киселине могу имати користан ефекат у процесу спречавања настанка шизофреније или бар ублажити ток и симптоме ове болести. Одговарајући додатак исхрани може имати делимично позитивни терапијски ефекат чак и код тежих болесника, побољшавајући неке аспекте понашања и углавном, смањујући когнитивно пропадање (257). Оксидативна оштећења код шизофреније могу се променити применом антипсихотика, али та промена није нужно позитивна, што значи да би антипсихотици могли чак и да стимулишу прооксидативне догађаје. Високо незасићене масне киселине (ПУФА) су високо концентрисане у неуронским фосфолипидима и важне су компоненте неуронске ћелијске мембране. Модулирају механизме сигнализације ћелија мозга, укључујући допаминергички и серотонергички пут, па је логична веза ове примене и утицаја на поремећаје расположења, депресивни синдром, когнитивне функције и могућег утицаја на шизофренију. Примена омега 3 масних киселина током терапије са антипсихотичким лековима је позитивно утицала на смањење појаве екстрапираמידалних симптома, на почетку примене, али овај ефекат није био стабилан након шестомесечне примене (258, 259). Примена ЕПА у дози од 2 гр дневно заједно са антипсихотичким лековима, показала је побољшање у односу на плацебо мерено ПАНСС скалом (260). Примена ЕПА током 12 недеља у односу на плацебо код пацијената који су били већ на лечењу са различитим типичним и атипичним антипсихотичким лековима (клозапин, оланзапин, рисперидон, кветиапин или типичним неуролептиком) показала је значајно побољшање укупног резултата мерених на ПАНСС скалама, али је забележен и велики ефекат плацеба код пацијената који су примали само типичне или нове генерације антипсихотика.

Супротно томе, код пацијената на клозапину био је мали плацебо одговор, али значајан ефекат повећања ефекта ЕПА на свим праћеним скалама (*PANSS, PANSS subscales and the Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS)*). Слични резултати у корист примене ЕПА су добијени применом једног грама Омега 3 заједно са антипсихотиком у односу на плацебо, где је примена Омега 3 значајно надмашила плацебо (261). Познато је да је рано препознавање и лечење продормалног периода психотичних поремећаја повезано је са потенцијалним повољнијим исходима. Третман са омега-3 масним киселинама може бити занимљива опција лечења или помоћи у

лечењу ових пацијената због мале учесталости нежељених ефеката. Примене омега масних 3 киселина у односу на плацебо, праћењем ефеката током 40 недеља након примене приказан је позитивни утицај на заустављање напредовања психозе код младих пацијента, смањење развоја прве психотичке епизоде и побољшања психопатологије и нивоа функционисања (262,263). Закључци великих студијских мета-анализа подржавају употребу омега-3 масних киселина код пацијената оболелих од шизофреније или других психотичних поремећаја, али и указују да су резултати прелиминарни и да су потребна додатна специфична истраживања (264, 265, 266, 267) .

Насупрот позитивним резултатима примене омега 3 полузасићених масних киселина заједно са антипсихитицима, треба нагласити да постоје и мање охрабрујући резултати истраживања где је показано недовољно постојање значајних разлика током њихове примене и смањењу позитивних или негативних симптома, расположењу и спознаји. Студијски закључци указују на добру подношљивост примене омега-3 масних киселина, а њихова примена се препознаје као сигурна у дозама до 5 г / дан и периоду примене од 12-16 недеља, али су аутори остали скептични у погледу специфичне ефикасности ЕПА у раној психози (268).

1.29. Протеини сурутке

Вредности сурутке као здравог и терапеутско корисног напитка су познати од вајкада, а у народној медицини јој се често приписују чудотворне моћи и могућности. То није ништа ново, имајући у виду да је још 460 година пре нове ере, отац медицине Хипократ истиче вредност сурутке као терапијског напитка, потврђену чињеницом да њена примена делује веома ојачавајуће на организам и препоручивао је сурутку као помоћ у лечењу туберкулозе, жутице, кожных болести и сличних обољења (269). Због богатства високовредним протеинима, ови напаци су идеалан извор енергије и храњивих материја за спортисте, а све је више саставни део медицинских и немедицинских дијета и промена режима исхране.

Сурутка је главни споредни продукт у индустрији прераде млека. Основни проблем индустрије млека је што се само 10–20% млека искористи за добијање неког од производа, док 80–90% млека отпада на сурутку (270). Сурутка је течни остатак настао при производњи сира и казеина и који је последица киселинско-ензимског третмана млека. Различити начини производње сирева има за последицу и настанак различитих форми сурутке; слатка, слана, кисела, свежа, са или без лактозе, са или без минерала и слично. Деловањем киселина на млеко на температури од 25 степени (на пример под дејством бактерија млечних киселина или неке конкретне киселине у лабораторијским условима), настаје казеинска смеша (кисело млеко) која се таложи при вредностима рН од 4,5. Даљим процесом декантовања или центрифугирањем добијају се сирни производи и казеинска сурутка која је кисела и која се може даље прерађивати (271), док се при поступку ензимског третмана добијају сир и сирна сурутка. У зависности од начина третирања млека било млечним киселинама (садржи ензиме и пепсин) или индустријски киселинама (отклањањем минералног састава и осталим технолошким процесима) добијају се различите форме сурутке која може бити кисела, слатка, деминерализована, са више или мање лактозних шећера и млечних масти. Постоји и техничка сурутка која се добија таложењем протеина млека с другачијим агенсима у односу на оне који се употребљавају при производњи киселе и

слатке сурутке (272). На овај начин се индустријски могу добијати различити типови сурутке који могу имати и различиту индустријску или прехранбену употребу.

Прехранбена примена сурутке са модификацијама у свом саставу (концентрација и састав минерала, количина масти или шећера), је нашла своје место у дијеталној исхрани, исхрани новорођенчади, кондиторској индустрији, фармацеутској индустрији. Примарна употреба је у прехрани где је концентрација и садржај минерала од важног значаја. На примеру садржаја лактозе, различити типови сурутке имају и различиту примену, па на примеру сурутке која се користи у прехранбеној индустрији садржај лактозе мора бити испод 60% (272). Количина сурутке која се добије приликом производње сира скоро је једнака количини млека која је потребна за његову производњу, што значи да приликом производње 1 кг сира утроши се око 10 литара млека и просечно настаје 9 кг, односно 8-12 л сурутке у зависности од врсте сира који се производи (274). Сурутка је због свог нутритивно састава веома добар супстрат за примену у различитим биотехнолошким процесима као што су производња микробне биомасе и производња микробних метаболита. Без обзира на то, још увек се свега 50% сурутке искоришћава у прехранбеној и индустрији врења, док се остатак испушта у водотокове без претходне обраде (275, 276). Испуштање сурутке у водотокове са једне стране представља неопростив губитак нутритивно вредне сировине, а са друге стране проузрокује велике еколошке проблеме с обзиром на високе вредности хемијске и биолошке потрошње кисеоника у водотоковима и негативним утицајем на биолошки свет у њима. С обзиром да је процена производње сурутке у свету на нивоу 200 милиона тона годишње и има тенденцију раста, оволика количина сурутке се може посматрати двојак; као одлична база за добијање висококвалитетних енергетско градивних производа у исхрани, али и као потенцијално опасна база за изазивање еколошких проблема у природној средини (277).

Састав и својства сурутке зависе од квалитета млека и технологије производње сира. Према просечном саставу, сурутка садржи око 93% воде, а из ње се добија преко 50% суве материје из млека. Највећи део сурутке чини лактоза, док мање од 1% чине протеини сурутке (278). Лактоза чини око 70% шећера сурутке и она је врло важан енергетски извор који доприноси вредности сурутке и има вишеструку улогу. Неки од благотворних ефеката лактозе су подстицање перисталтике црева, олакшавање апсорпције калцијума и фосфора, успостављање благо киселе реакције у цревима, чиме се спречава раст и размножавање штетних бактерија. Количина минералних материја зависи углавном од начина њеног добијања, а највећа варирања су у саставу калцијума, фосфата, млечне киселине и лактата којих у киселој сурутци има више него у слаткој (279). Удео калцијума и фосфора је вишеструко већи у киселој сурутци с обзиром на то да је при већој киселости сурутке, већа је и растворљивост минералних материја (Табела број 4)

Табела број 4. Просечан хемијски састав слатке и киселе сурутке (гр/л)

Састојак	Слатка сурутка	Кисела сурутка
Сува материја	63 -70	63 - 70
Лактоза	46 -52	44 - 46
Протеини	6,0 - 10,00	6,0 - 8,0
Калцијум	0,4 - 0,6	1,2 - 1,6
Фосфати	1,0 - 3,0	2,0 - 4,5
Лактати	2,00	6,40
Хлориди	1,10	1,10

Богатство бактеријских сојева под чијим утицајем се развијају различите форме млечних киселина, убрајају се прејдставници више родова (*Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* и *Weissella*) (280) . Пробиотске културе уз рода *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* представљају значајан извор бактеријских култура са јасним позитивним утицајем на дизбиотични састав цревног садржаја и утицај на имунолошки и антизапаљенски систем црева и организма уопште, посебно имајући у виду да ове бактерије могу да стварају млечну киселину унутар лумена црева (281). У сурутку из млека прелазе и витамини растворљиви у води, али њихов садржај је веома променљив јер зависи од начина чувања. Сурутка у свом саставу може имати веће количине витамина Б групе, рибофлавина, кобаламина и фолне киселине, који су углавном везани за протеине сурутке, па при производњи сира великим делом прелазе у сурутку. Управо та повећана количина рибофлавина сурутке даје карактеристичну жуто-зелену боју .

Протеини сурутке имају одлична функционална својства, попут добре растворљивости, вискозности, способности желирања и емулговања, па се њихови концентрати веома често користе у прехранбеној индустрији. Чињеница да су протеини сурутке лакше сварљиви од казеина, користи се у производњи хране за одојчад, као и ради повећања храњиве вредности не само млечних, него и бројних других прехранбених производа. Исто тако, потребно је споменути и имуноглобулине и друге гликопротеине (лактоферин, трансферин), као и ензиме (лизозим, лактопероксидаза) сурутке који су веома битни чиниоци имуноактивног потенцијала јер поседују антимикробна својства, а такође могу редуковати или инхибирати алергијске реакције (282). Протеине сурутке чине различите термолабилне фракције као што су β -лактоглобулин, α -лакталбумин, албуминног серума, имуноглобулин и термостабилна фракција протеоза и пептона (269). У начелу, протеини сурутке су подељени у пет главних група са изузетком мањих протеина због диференцијалне растворљивости, електрофоретских и хроматографских својстава.

- β -лактоглобулин (*β -Lactoglobulin*) је главни протеин сурутке и чини 40% протеина сурутке (283,284) .
- α -лакталбумин (*α -Lactalbumin*) разликује се од осталих протеина сурутке растворљивошћу и чини 20% протеина сурутке. Богат је лицином, леуцином, цистеином и аспарагинском киселином (285).
- Албумин говеђег серума садржи 10% протеина сурутке. Он се не синтетише у млечним жлездама и појављује се у млеку након пасивног преласка из крви (286).
- Имуноглобулини су познати и као „колострумски протеини“ због постојећих високих нивоа колострума и чине 10% протеина сурутке. Постоје три главне врсте имуноглобулина: IgG, IgA, and IgM. IgG је доминантни тип имуноглобулина у сурутци (287). Имуноглобулини обезбеђују исправно и адекватно функционисање антитела (288).
- Протеазе (*protease-peptone*) су најотпорнији протеини сурутке на температуру и чине 20 % од свих протеина сурутке.

Од осталих протеина који су у мањем проценту присутни у сурутци, треба навести лактоферин (*Lactoferrin*), β_2 микроглобулин (*β_2 Microglobulin*) и гликопротеин (*glycoprotein*).

- Лактоферин је мултифункционални гликопротеин који се веже за гвожђе, важан је због свог антимикробних својстава и зацељења рана (289).
- $\beta 2$ микроглобулин појављује се у крављем млеку протеазно зависном разградњом ћелијске фракције млека и има имунорегулишуће својство. Овај протеин се одликује сличношћу са одређеним деловима имуноглобулина (290). Гликопротеин је један од најмањих протеина сурутке.

Протеини сурутке спадају у нутритивно највредније протеине захваљујући свом саставу који карактерише велики удео есенцијалних аминокиселина (највише лизина, цистеина и метионина). Због оваквог аминокиселинског састава, протеини сурутке имају много већу биолошку вредност у поређењу са казеином или другим изворима протеина. Есенцијалне аминокиселине се не могу се синтетизовати у телу и зато се морају уносити кроз исхрану. Есенцијалне аминокиселине из сурутке, посебно леуцин, неопходне су за подстицање синтезе протеина у мишићима и представљају протеин који обезбеђује висок удео ових аминокиселина који су неопходни за подстицање раста мишића (291, 292). Искористљивост протеина сурутке у организму уско је повезана и са односом цистин/метионин који је код протеина сурутке око 10 пута већи него код казеина. Стога не чуди чињеница да се топлотно денатурисани лакталбумини готово потпуно (100%) ресорбују у пробавном систему, док је тај проценат код казеина знатно мањи и износи око 75% (269). Потребно је споменути и слободне аминокиселине чији удео у сурутци може бити веома различит, највише зависи од степена хидролизе казеина при производњи сирева. Протеини сурутке богати су аминокиселинама разгранатих ланаца као што су изолеуцин, леуцин и валин, које се за разлику од других есенцијалних аминокиселина, директно метаболизују и преносе у мишићно ткиво у којем се од свих аминокиселина управо оне прве користе за изградњу ткива током вежбања и кондиционих тренинга (293). Садржај слободних аминокиселина у сурутци, највише зависи од степена хидролизе казеина (деловање ензима и протеолитичких киселина бактерија млечне киселине), поступку технолошке прераде и производње различитих врста сирева (272). Учешће слободних аминокиселина је стога у слаткој сурутци око 4 пута веће, док у киселој сурутци чак и до 10 пута веће него у млеку, што је приказано у табели брј 5 (290)

Табела број 5. Просечан хемијски састав слатке и киселе сурутке (гр/л)

Сурутка	Слободне аминокиселине		У протеинима	
	Укупне	Есенцијалне	Укупне	Есенцијалне
Слатка	132,7	51	6,49	3,326
Кисела	450,00	365,00	5,59	2,85

Сурутка представља највећи извор есенцијалних аминокиселина у односу на биљне или животињске изворе. Концентрација ових аминокиселина је код сурутке 43 % у односу на зоб (21%), љуска пшенице (21%) и пшеница (22%), млеку 39%, казеину 34% и јајима 32%) или протиенима меса (38%) (294). Оваква количина могућег уноса аминокиселина путем напитака који су богати протеинима сурутке показују да је њихов значајан ефекат на синтезу протеина и бољи анаболички ефекат у телу (295). Већи анаболички одговор настао је услед већег повећања синтезе протеина у целом телу и значајно већег смањења разлагања протеина унутар људског тела. Концентрација мишићних протеина је била значајно већа након конзумирања услед промене у синтези

протеина у целом телу и овај ефекат је завистан од унете дозе (296). Протеини сурутке садрже скоро 50% есенцијалних аминокиселина и око 26% аминокиселина разгранатог ланца, а њихов састав је сличан саставу аминокиселина људских мишића, што омогућава бржу апсорпцију од осталих извора протеина. Ови протеини подстичу регенерацију скелетних мишића, смањују умор повећавају синтезу мишићних протеина и благо смањење разградње мишићних протеина (296, 297, 298). Овај позитивни утицај аминокиселина сурутке на есенцијалне биомаркере код спортиста (миоглобин и креатин киназа) је познат и доказан и помаже спортистима одлагањем или ублажавањем умора и смањењем ризика од спортских повреда, док спортисти прелазе потенцијални аеробни праг (299).

1.30. Здравствени бенефити протеина сурутке

Протеини сурутке су захваљујући својој структури и аминокиселинском саставу веома корисни у људској исхрани, али такође имају и описане корисне здравствене ефекте. Висока нутрициона и биолошка вредност, антиоксидантна активност, инхибиција ангиотензин конвертирајућег ензима, потенцијални антиканцерогени ефекат, утицај на контролу телесне тежине (као саставни део дијета уз доказани утицај на осећај ситости), антимикробно дејство укључујући и антивирусно (хепатитис Ц), позитивни утицај на метаболизам костију и утицај на превенцију остеопорозе, обезбеђивање довољних количина витамина Б (Б12, Б6, Б9, фолна киселина), помаже у процесу зарастања рана и остварује антизапаљенске ефекте (300). Повећана потрошња протеина може додатно смањити ризик од хипертензије и кардиоваскуларних болести. За неколико пептида проистеклих из протеолитичке млечних протеина наводи се да су инхибитори АЦЕ (Такано, 1998). α -лакталбумин и β -лактоглобулин сурутке, поседују АЦЕ-инхибиторна својства (301,302). Нехидролизован β -лактоглобулин има веома ниску АЦЕ инхибицијску активност, али његова хидролиза (коришћење пепсина, трипсина, химотрипсина и / или других протеаза) резултирала је високим вредностима инхибиције АЦЕ ензима (73%-90%) и потенцијалним антихипертензивним деловањем (303).

Прехрана са високим протеинским уносом може смањити телесну тежину и повећати осетљивост на инсулин. Исхрана пацова резистентних на инсулин, протеинском дијетом која садржи минимум 32% концентрат протеина сурутке која је калоријски ниске вредности, смањује нивое липида у ткиву, проценат масноће у телу, смањује телесну тежину за 4%, концентрацију инсулина у плазми за 40% и повећава осетљивост на инсулин у поређењу са исхраном протеинима из црвеног меса (304). Протеини сурутке у оброку богатом масноћом имали су сличне ефекте на постпрандијалне нивое триглицерида код дијабетичара типа 2, при чему изолати протеина сурутке изазвали већи пад резистенције на инсулин (305). Повећана концентрација неких гастроинтестиналних хормона у плазми повезаних са ситошћу, посебно протеина сурутке, аминокиселина и њихових метаболита, може деловати појединачно или заједно у контроли одговора на ситост. Протеини сурутке представљају природну алтернативу антиоксидансима, а њихово антиоксидантно деловање је потврђено како из угла самих протеина сурутке (306, 307), тако и деловањем њених засебних фракција протеина (α -лакталбумина, β -лактоглобулин, албумини говећег серума и лактоферина) (308, 309, 310). Протеини сурутке су добар извор супорних аминокиселина па су њихове сулфхидрилне групе, заједно са биоактивним пептидима одговорне за њихово антиоксидативно деловање (311). Апсорпција пептида може повисити ниво ћелијског глутатиона и активност супероксид

дисмутазе, док хидролизирани изолати сурутке могу инхибирати оксидативно оштећење у плућима (312). Мишеви који су били на исхрани са протеинима сурутке су имали ниже стопе прираста телесне тежине и нижи проценат телесне масти иако је потрошња енергије остала непромењена.

Патохистолошки преглед јетре мишева указивао је на знатно мањи степен оштетења јетре по типу стетаозе, а то је потврђено и бољим резултатима у евидентирању биохемијских параметара оштећења јетре (313). Евидентно је веће побољшање осетљивости на инсулин и смањивање резистенције на исти, па је и закључак ове студије био да је конзумирање протеина сурутке у виду додатака исхрани могу бити ефикасни у успоравању развоја масне болести јетре и дијабетеса типа 2 (313).

1.31. Протеини сурутке и шизофренија

Пацијенти са шизофренијом живе углавном ван куће, најчешће у неадекватном окружењу без породичне хармоније и неге, што је повезано са лошим физичким здрављем (314). По правилу рано умиру због кардиоваскуларних болести, лоше прехране, гојазности, физичке неактивности и пушења (315). Прехрамбени статус пацијента је веома важан у етиологији болести као што су кардиоваскуларне, дијабетес и рак, али врло мало истраживања је доступно у вези са односом менталних болести и исхране (316,317). Мали број радова је указивао да постоји одређена веза између уноса масне исхране и здравствених компликација код шизофрених пацијената, док је унос млечних производа, меса, засићених масти повезан су са неповољним исходом код пацијената са шизофренијом (318, 319). Неки хранљиви састојци из хране делују здравствено позитивно код пацијената са шизофренијом. Запаљење и оксидативни стрес су највиши у раној болести и тада могу покренути процес настанка неуролошког оштећења и као и оштећења процеса когниције (157,320). Из тог разлога примена антиоксидативних/антизапаљенских хранљивих материја током развоја и лечења шизофреније се може посматрати потенцијално корисним (321).

Два грама аминокиселине „н-ацетилцистеин“ (НАЦ) дневно значајно смањује негативне симптоме код пацијената са шизофренијом (322, 323). Примена витамина Б комплекса значајно смањује укупне психијатријске симптоме код 297 дугогодишњих пацијената, а благотворни ефекти Б-витамина код шизофреније повезивани применом 15 мг дневно „л-метилфолата“ (витамин Б9) са смањењем укупних и негативних симптома (324). У односу на трајање болести, супституција витаминима има веће ефекте код пацијената са краћим трајањем болести и оних који захтевају ниже дозе антипсихотичких лекова што указује да су користи додатака витамину могле бити израженије у раним фазама психозе (325).

Ситуација са уносом протеина или појединих фракција је постала предмет проучавања углавном у контексту утицаја на метаболичке аспекте здравља, утицаје на физичку спремност и мишићну масу, као и ефекте на телесну тежину. Посебно су истраживачима били интересантни чисти протеини без примеса масти или примена протеинских премикса са или без придодатих аминокиселинских додатака. Имајући у виду значајност аминокиселина за нормално функционисање људског тела, посебно су биле интересантне есенцијлане аминокиселине из разлога не могућности њиховог стварања унутар организма, већ потреби да се стално уносе путем хране. Двадесетак α -аминокиселина у телу учествује у изградњи протеина који су саставни део различитих ткива, хормона, ензима итд. Беланчевине (протеини) су градивни материјал за ћелије и

ткива. Посебно је важно уносити храну која садржи есенцијалне аминокиселине (која организам није у стању да синтетизује сам) (326).

У табелама број 6 и 7 приказана је подела есенцијалних и несенцијалних аминокиселина

Табела број 6. Приказ есенцијалних аминокиселина

Есенцијалне аминокиселине	
1	Хистидин
2	Лизин
3	Триптофан
4	Фенилаланин
5	Метионин
6	Валин
7	Изолеуцин
8	Треонин
9	Леуцин

Табела број 7. Приказ неесенцијалних аминокиселина

Несенцијалне аминокиселине	
1	Аланин
2	Аспаргин
3	Аспаргинска киселина
4	Цистин
5	Цистајн
6	Глицин
7	Пролин
8	Глутамин
9	Аргинин
10	Серин
11	Тирозин

Примена таурина (4 грама дневно) током 12 недеља примене значајно побољшао укупне симптоме, психотичне симптоме, депресију и функционисање у односу на плацебо, без значајних ефеката о спознаји, а примена Н ацетил цистеина повећава ниво антиоксиданса глутатиона у мозгу након 6 месеци, без утицаја на симптоме болести али са значајним побољшањем брзине когнитивне обраде (327, 328).

У протеинима сурутке доминирају аминокиселине који су богате цистеином и функционишу као донорски систем цистеина у ћелијама (329). Глутамин у просеку представља 4 до 5% укупног састава аминокиселина. Глутатион је важан антиоксидантни ћелијски систем заштите и као такав учествује директно у елиминацији оксидативног стреса и одржава вредности аскорбинске киселине и токоферола у

потребним активним облицима. Исцрпљивање активности глутатиона уобичајена је последица појачаног стварања слободних радикала и дешава се интензивно у мишићима током вежбања. Глутатион има својства чистача слободних радикала и поседује изразиту антиоксидацијску активност (330). Примена протеина сурутке деловала је позитивно селективно одржавајући нивое глутатиона у здравим ћелијама или ћелијама рака, представљајући на тај начин моћан модулатор ћелијских имуних функција (331). Ниво лимфоцитног глутатиона се повећава додавањем сурутке у исхрани (332). Опште је мишљење је да повећања производње слободних радикала настаје заједно са смањењем нивоа глутатиона (333). Протеини сурутке побољшавају антиоксидативни капацитет у борби против акутног оксидативног стреса кроз више путева. Они одржавају равнотежу између капацитета ћелије за преживљавањем или њеним умирањем.

Протеини сурутке повећавају могућности преживљавања ћелије повећањем активности глутатиона, активирањем ензимске активности каталазе и содијум димекутазе доводећи до инхибиције пероксидације липида, па се зато сматрају потенцијално корисним антиоксидативним активатором и спречавањем настанка цитотоксичности радикала у форми водоник пероксида (334).

Код шизофрених пацијената оксидативни стрес је доказани узрочно последични механизам настанка болести и компликовања њеног клиничког тока јер постоји неравнотежа између производње реактивних врста кисеоника / реактивних азотних врста и нивоа расположивих антиоксиданаса (335). Он се додатно компликује патофизиолошким механизмима као што су дисфункција митохондрија, упала, пероксидација липида, оштећење ДНК и апоптоза (336, 337). Самим тим може се закључити да је примена антиоксиданса може усвојити као корисна помоћ у терапија код ових пацијената и где се антиоксиданси најчешће користе као додаци исхрани. Примена одређених антиоксиданаса као што су *N*-ацетил цистеин, алфа липоинска киселина, мелатонин, есенцијалних аминокиселина, повећавају ниво глутатиона у плазми код пацијената са шизофренијом (338). Недовољна или хипофункција *N*-метил-*D*-аспартата (НМДА) (*N-methyl-D-aspartate (NMDA)*) рецептора за глутамат је једна од актуелних теорија настанка шизофреније и могућих механизма настанка и компликовања патофизиологије саме болести (339,340). Терапијска примена одређених аминокиселина, може утицати на функционалност НМДА рецептора и довести до побољшања симптома шизофреније. Глицин, *D*-циклосерин, *D*-серин, делују као ко-агонисти на НМДА рецептору и могу довести до побољшања негативних симптома код пацијената са шизофренијом, па самим тим деловати и корисно током терапије саме болести (341).

Биогени амини као што су норепинефрин, серотонин, допамин и хистамин су синтетизовани из њихових прекурсора, триптофана, тирозина и хистидина (342), а вредности прекурсора ових аминокиселина у централном нервном систему зависе од концентрације аминокиселина фенилаланина, валин-леуцина и изолеуцина у крви и афинитета носача тирозина и триптофана који омогућавају њихов прелазак кроз крвно-мождану баријеру (343). Аминокиселине серин, глицин, аспаргинска и глутаминска киселина понашају се као неуротрансмитери и помажу у развоју неурона, па су поремећаји равнотежа ових нивоа неуротрансмитера примећују код пацијената оболелих са шизофренијом (344). Промене концентрације ових аминокиселина у плазми могу повећати могућност настанка психотичног поремећај, а могу имати и утицај на исход самог лечења. Зато и не треба да чуди повећани интерес за откривање могуће улоге аминокиселина у патофизиологији шизофреније, са евидентним фокусом на глутамат и гама аминок бутерну киселину (ГАБА) (*gamma amino butyric acid*) (345).

1.32. Оланзапин и примена протеина сурутке

Исхрана која је заснована на бази повећаног уноса високоенергетске хране у комбинацији са седентарним начином живота, значајно доприноси раној инсулинској резистенцији, повећању липида у крви и хепатостеатози, што заједно чине ране предикторе настанка дијабетеса тип 2 и не алкохолне масне јетре. Отприлике 1 од 3 пацијента са не алкохоном масном јетром има дијабетес, а приближно 3 до 4 пацијентата са са дијабетсеом тип 2 има неку форму масне јетре (346). Јасно је да узрочно последична веза постоји. Узимајући у обзир постојање потенцијала оланзапина ка развоју метаболичких пормећаја, а такође и неопходности његове примене код пацијената са психозама, јасно је да је више него корисна свака активност или процедура која може да модулира ове негативне тенденције током примене лека (170). Нема превише радова који се баве применом протеина сурутке и анализи њиховог потенцијалног протективног деловања на развој негативних метаболичких ефеката примене оланзапина. Лечење оланзапином повезано са повећаним ослобађањем прооксиданата и смањеном активношћу антиоксидативних маркера, а додатна примена протеина сурутке у форми додатка исхрани самостално или заједно са омега 3 масним киселинама, била би логична помоћ у смањењу негативних утицаја на параметре оксидативног стреса.

Протеини сурутке су утицали на смањење оксидативног стреса код пацова изазваним преоптерећењем гвожђем. Током шест недеља протеини сурутке су побољшали оксидативне промене, повећавајући концентрацију еритроцитног глутатиона и инхибирајући у потпуности оштећење ДНК изазвано преоптерећењем у леукоцитима и колоноцитима и показујући антиоксидативне и антигенотоксичне ефекте протеина у „*ин виво*“ моделу оксидативног стреса изазваног преоптерећењем гвожђа (347). Протеини сурутке у *ин виво* анализама, значајно повећавају нивое глутатион синтеазе и каталазе уз смањење нивоа ТБАРС. Посматрано по ткивима, ензимска антиоксидативна активност је значајно повишена у танком цреву, мишићима квадрицепса, панкреасу и плућима у поређењу са контролном групом. Интересентно је да се брзина разградње водоник пероксидних радикала значајно смањена у мишићима и ткиву јетре, мозгу, али је значајно повећана у ткиву слезине (348). Додавање у исхрани протеина сурутке мишевима на масној исхрани доводило је до побољшања толеранције на глукозу и осетљивости на инсулин, а патохистолошким анализама је утврђен знатно мањи степен развоја синдрома масне јетре и стеатохепатозе, па се као такви, додаци исхрани базирани на протеинима сурутке могу сматрати корисним и ефикасним у успоравању развоја масне јетре и ДМ 2 (349).

Код пацова, суплементи протеина сурутке смањују садржај липида у јетри, али само када су они били последица повећаног уноса хране богате холестеролом (350). Код гојазних мишева, губитак тежине у условима енергетског ограничења повезан је високим вредности, калцијумом и протеинима сурутке у исхрани (351). Код мишева који су користили високо калоријску масну храну, високи садржај калцијума и протеина сурутке инхибирао је акумулацију телесне масти, делујући на промене у експресији гена за адипоците и сигналног регулационог пута за лептин, као и повећањем активности адренергичног сигналног пута путем $\beta 3$ адренергичног рецептора (352). Високе дозе калцијума у исхрани инхибирају синтезу биоактивног витамина Д, који поспешује улазак калцијума у адипоците. Инхибиција нивоа калцијума у адипоцитима смањује липогенезу и поспешује липолизу, што је један од механизма утицаја протеина сурутке на процес мршављења. Протеини сурутке

смањују оксидативни стрес у јетри и системски запаљенски процес (353). Заштитни ефекат протеина сурутке се огледа у повећању базалног метаболизма и потрошњи кисеоника у митохондријама, као и нижом метаболичком искоришћеношћу липида у исхрани, што доводи до укупне ниже енергетске ефикасности хране (353).

ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

2.1. Општи циљ

Испитати утицај временски дефинисане примене оланзапина на настанак и развој неалкохолне масне болести јетре пацова, током примене дијете богате протеинима сурутке као и испитати и утицај примене дијете богате протеинима сурутке са или без додавањем у исхрани омега-3 масних киселина, као и настанак морфометријских и патохистолошких промена јетре, као и објаснити потенцијалне механизме настанка тих промена.

2.2. Специфични циљеви

1. Испитати утицај оланзапина и дијете богате протеинима сурутке самостално или у комбинацији са омега 3 масним киселинама на морфолошке и хистолошке промене ткива јетре пацова, са посебним освртом на квантификацију портне инфламације, броја *Kupffer*-ових ћелија, фокалне некрозе хепатоцита и микро и макровезикуларних масних промена јетре.
2. Испитати утицај хроничне примене оланзапина и дијете богате протеинима сурутке самостално или у комбинацији са омега 3 масним киселинама на параметре оксидационог стреса (супероксид анион радикал O_2^- , водоник пероксид H_2O_2 , индекс липидне пероксидације TBARS, нитрити NO_2^-);
3. Испитати утицај хроничне примене оланзапина и дијете богате протеинима сурутке самостално или у комбинацији са омега 3 масним киселинама на параметре антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH);
4. Испитати утицај хроничне примене оланзапина и дијете богате протеинима сурутке самостално или у комбинацији са омега 3 масним киселинама на липидне и параметре холестазног и холестатског оштећења јетре као што су укупни холестерол, HDL-холестерол, LDL-холестерол, триглицериди, инсулин, укупни билирубин, аспартат аминотрансфераза (AST), аланинаминотрансфераза (ALT), гама глутамил трансфераза (γ GT).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

3.1. Дизајн истраживања

Експериментална студија на животињама *in vivo* и анималном материјалу *in vitro*.

Истраживање је спроведено на 96 експерименталних животиња, *Wistar* пацовима *albino* соја, мушког пола, старости 8 недеља, просечне телесне масе око 200 ± 20 грама. Експерименталне животиње су биле чуване у строго контролисаним условима (температура 25°C , циклус светлост:тама 12:12 часова) и према прописима Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука у Крагујевцу.

3.2. Анимални модел

Животиње су груписане у 2 групе (свака група је била подељена на 4 подгрупе (по 12 животиња у свакој подгрупи):

Контролне групе експеримента:

1. CTRL- контролна група пацова храњена стандардном храном без фармаколошког третмана;
2. CTRL + OLZ - контролна група пацова храњена стандардном храном којој се примењује оланзапин у дози од $7,5 \text{ mg/kg/day}$ интраперитонеално,
3. CTRL + FA- контролна група пацова храњена стандардном храном уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинске киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинске киселине (DHA) ($400 \text{ mg EPA} + 200 \text{ mg DHA}$).
4. CTRL + FA + OLZ - контролна група пацова храњена стандардном храном уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинске киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинске киселине (DHA) ($400 \text{ mg EPA} + 200 \text{ mg DHA}$) којој се примењује оланзапин у дози од $7,5 \text{ mg/kg/day}$ интраперитонеално.

Експерименталне групе:

5. PD- експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, L-arginin, L-ornitin, L-tryptofan и α -ketoglutarat и непротеинска компонента 20%: Коензим Q10, цинк-глуконат, Витамин B₆):
6. PD + OLZ - експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, L-arginin, L-ornitin, L-tryptofan и α -ketoglutarat и непротеинска компонента 20%: Коензим Q10, цинк-глуконат, Витамин B₆) којој се примењује оланзапин у дози од $7,5 \text{ mg/kg/day}$ интраперитонеално;
7. PD + FA- експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, L-arginin, L-ornitin, L-tryptofan и α -ketoglutarat и непротеинска компонента 20%: Коензим Q10, цинк-глуконат, Витамин B₆) уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду

фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (ЕРА) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (ДНА) (400 mg ЕРА+200mg ДНА).

8. PD + FA + OLZ - експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, L-arginin, L-ornitin, L-triptofan и α -ketoglutarat и непротеинска компонента 20%: Коензим Q10, цинк-глуконат, Витамин В₆) уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (ЕРА) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (ДНА) (400 mg ЕРА+200mg ДНА) којој се примењује оланзапин у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално;

Животиње су осим контролисаног режима исхране имале и одговарајући фармаколошки третман у трајању од 6 недеља (оланзапин 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално) (354).

У циљу испитивања утицаја хроничне протеинске исхране на морфометрију, патохистологију и функцију јетре пацова под дејством антипсихотика, животиње су третиране протеинским дијеталним режимом у трајању од 6 недеља са или без примене омега-3-масних киселеина и оланзапина сходно релевантним подацима претходно публикованих студија на анималним моделима (355, 356).

3.3. Протокол истраживања

У току експерименталног периода, животињама се недељно пратила телесна тежина и гликемија, уз свакодневни унос воде и хране, на основу чега се израчунавао и калоријски унос за сваку животињу из сваке групе за цео експериментални период.

3.4. Морфометријска и патохистолошка испитивања

Након завршеног контролисаног режима исхране и фармаколошког третмана, после четрдесет и три дана (43. дана) третмана животиње су жртвоване и спроведена су планирана испитивања на изолованој јетри.

Жртвовање животиња је спроведено на начин којим се избегава патња експерименталних животиња, а у сагласности са релевантном директивом и одлукама етичког комитета.

Након жртвовања, јетре свих 48 експерименталних животиња су достављене за патохистолошку анализу у затвореним, пластичним посудама, у које је ткиво стављено одмах након изузимања и наливено одговарајућим фиксативом. За фиксацију је коришћен 10% неутрални, пуферизовани формалин, потребан у оригиналном паковању (*10% Neutral Buffered and stabilized formalin solution, pH 7.0*). Све посуде са узоркованим, комплетним органом су обележене редним бројем експерименталне групе и животиње (1/1,1/28/4,8/5,8/6), а количина фиксатива је 10-20 пута већа од запремине ткива јетре. Задатак фиксатива је да очува структуру ткива, морфологију ћелије и ћелијских елемената, као и њихову локализацију у што природнијем стању.

Ткиво је фиксирано 48 сати на собној температури, затим испрано водом и макроскопски описано (број, димензије и боја). Од комплетних органа формиран су исечци, правилно орјентисани и стављени у касете за фиксацију обележене бројевима

на исти начин као при достави. Посуде са преосталим, резервним јетриним ткивом су наливене формалином и одложене у предвиђени складишни простор.

Припремљене касете са обликованим исечцима ткива јетре, димезија 10x10x5мм, остављене су још 24 сата у 10% неутралном формалину, затим су детаљно испране у води и премештене у ткивни процесор (*model TP1050, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany*), где се укључивањем стандардног програма обавила дехидрација ткива у растућим концентрацијама алкохола (70%, 96%, 100%), просветљавање ксилолом и двоструко прожимање парафином у различитом временском трајању. Након завршене обраде у ткивном процесору, узорци ткива су стављени (калупљени) у металне модле и наливени топлим, течним парафином, растопљеним у диспензеру на температури од 56°C. Свака касета је спуштена на врх калупа, па су све заједно премештене на лед, како би се парафин потпуно стегао. Очврснули калупи са носачима су извађени из металних модли и по потреби су додатно обликовани тримовањем.

Охлађени парафински блокови су након поређења експерименталних бројева на калупу и предметном стаклу, фиксирани у предвиђено лежиште на ротационом микротому (*Leica RM 2135, Austria*) и покретањем металног сечива резани су ткивни пресеци дебљине 3-5µm. Резови ткива се опружани „пеглањем“ у загрејаној води температуре 56°C (± 4°C), након чега су пажљиво пренесени на обележена предметна стакла. Исечени пресеци ткива са сваког парафинског блока су монтирани на једно предметно стакло, при чему је за сваки експериментални узорак употребљено укупно 7 плочица за различите методе коришћених микроскопских анализа: стандардни хематоксилин-еозин (Н&Е), хистохемијски и имунохистохемијски метод.

Обележена предметна стакла са монтираним пресецима ткива јетре су фиксирана у термостату 15-60 минута на температури од 56°C, након чега су препарати били спремни за даљу обраду односно бојење.

3.4.1. Н&Е метода бојења

Бојење хематоксилином и еозином (Н&Е) захтева припрему монтираних ткивних пресека, што се постиже депарафинзацијом у органском растварачу (ксилолу) и рехидрацијом ткива провлачењем кроз серију раствора алкохола опадајуће концентрације (100%, 96%, 70%), након чега се осушене плочице поређају у носаче за бојење који се потапају у кивете обележеног садржаја (хематоксилин, еозин, вода за испирање). Да би се обезбедила трајност препарата, предметне плочице се на крају поступка поново дехидратишу алкохолима растуће концентрације (96%,100%).

Лабораторијском штоперцом се мери проведено време носача у свакој појединачној кивети (табела број 8). По завршеној процедури Н&Е бојења, употребом не-воденог медијума (*Canada balsam*), монтирају се покровна стакла, чиме су препарати ткива спремни за микроскопску анализу.

Табела бр. 8. Упутство за извођење Н&Е бојења

	Хемикалија	Време
1.	ксилол	10 минута
2.	100% алкохол	5 минута
3.	96% алкохол	2 минута
4.	топла вода - испирање	
5.	хематоксилин	6 минута
6.	вода- испрати и држати	5 минута
7.	еозин	5 минута
8.	вода- кратко испрати	
9.	96% алкохол	30 секунди
10.	100% алкохол	5 минута
11.	100% алкохол	5 минута
12.	ксилол 1.	5 минута
13.	ксилол 2.	10 минута

3.4.2. Имунохистохемијски метод бојења

a) *Masson trichrome*

b) *Sirius red*

ИНС (имунохистохемијски) метод се заснива на реакцији антиген-антитело. За имунохистохемијску детекцију и одређивање нивоа експресије *CD45*, *CD68*, *S100* и *vimentin*, коришћени су ткивни узорци фиксирани и укалупљени у парафин. Анализа је обављена применом палете моноклонских антитела истог произвођача и сличних карактеристика. (Табела бр. 9)

Резови ткива дебљине 3-5 μm , су монтирани на посебне високо адхерентне плочице *SuperFrost®* и сушени на температури од 56°C у току 1 сата. За имунохистохемијску детекцију примењена су моноклонска мишја антитела (*DAKO, Denmark*) и високо сензитивна, специфична стрептавидин-биотин имунохистохемијска метода (*LSAB+/- HRP, DAKO, Denmark*), у којој је стрептавидин обележен пероксидазом, а као хромоген је коришћен 3,3-диаминобензидин. У току бојења, истовремено су тестирани и познати негативни и позитивни ткивни узорци, а један ткивни пресек из испитиваног парафинског калупа, тестиран је реагенсом који је замењивао примарно антитело.

Процедура је подразумевала поступке демаскирања антигена, блокирања ендogene пероксидазе, инкубирања препарата са примарним антисерумом и поступак извођења *IHC* методе *LSAB+/-HRP*. Након депарафинизације и рехидрације ткивних пресека вршено је демаскирање антигена одговарајућим поступцима. Формалдехид у току фиксације, као и парафин у току калупљења, изазивају конфигурацијске промене протеина у ткиву формирањем интермолекуларних веза, због чега се поступком демаскирања антигена постиже обнављање примарне конфигурације, уклањањем

нежељених интермолекуларних веза. Демаскирање антигена вршило се високом температуром у микроталасној пећници *Molunex Compact*, у 0,1 М цитратном пуферу, рН 6,0, на 800W, у трајању од 21 минут.

Након демаскирања антигена је уследило блокирање ендogene пероксидазе, 3% воденим раствором H_2O_2 у трајању од 10 минута, а затим је наношено примарно антителио, са инкубацијом од 1h на собној температури, у влажној комори. Препарати су опрани 3 пута по 5 мин. у *PBS*-у (*Phosphate-Buffered Saline-PBS*, рН-7.2) и на њих су нанешена, предходно растворена у *PBS* -у, секундарна антителиа. Поново је вршена инкубација у влажној комори 30 мин. на собној температури, а затим је следило испирање, 3 пута по 2мин. у *PBS* -у. *Streptavidin-Horseradish Peroxidase*, предходно припремљен у оговарајућој концентрацији у *PBS* -у, је у оквиру следећег корака наношена на плочице, након чега је поновљена инкубација у влажној комори од 30 мин. на собној температури и, затим су плочице опране 3 пута по 2 мин. у *PBS* -у. Завршно, након наношења припремљеног раствора *DAB* супстрата (*diaminobenzidine tetrachloride/ chromogen substrate*) у одговарајућој концентрацији на исечке, плочице су инкубиране 5 мин. у влажној комори на собној температури. Препарати су опрани 3 пута по 2 мин. у дестилованој води и на исечке је наношен раствор *Mayer*-овог хематоксилина (контрастно бојење). Следило је поновно испирање водом са чесме, потапање у кисели алкохол 5 мин. и испирање дестилованом водом.

На крају, у киветама растућих концентрација алкохола (95%, 100%) препарати су дехидрирани и испирани три пута у ксилолу. Околина ткива на плочицама је осушена папирном ватом, након чега је стављано по кап канада-балзама и исечци су прекривани покровним стаклом.

Табела бр. 9. Палета примењених антителиа

Име антителиа	Произвођач	Кат.број	Клон	Разблажење
Monoclonal Mouse antibody CD45	Dako, Glostrup, Danmark		Ав	RTU
Monoclonal Mouse antibody CD68	Dako, Glostrup, Danmark		РАb1801	RTU
Monoclonal Mouse antibody S100 protein	Dako, Glostrup, Danmark			RTU
Monoclonal Mouse antibody vimentin	Dako, Glostrup, Danmark			

3.5. Процена нехроинфламаторне активности

Као методе су коришћене стандардна патохистолошка анализа са рутинским методом *H&E* бојења (357), хистохемијски и имунохистохемијски метод (358). Патохистолошку анализу, на микроскопу типа (*Carl Zeiss, Axioscop 40*), обавило је независно 2 истраживача, без увида у податке о експерименталним и контролним групама и врсти примењеног третмана. Различито оцењене препарате, истраживачи су на дискусионом микроскопу заједнички анализирали, до постизања консензуса. Након читавања резултата, извршена је обрада података. Препарати са репрезентативним

пољима, су снимани коришћењем три микроскопска увећања (x10, x20 и x40), помоћу камере (Canon PC 1089).

Микроскопски је анализирано 48 препарата ткива јетре сврстаних у 8 група. Нотирана је регуларност лобуларне грађе јетре, очуваност паренхиме, величина и садржај портних простора, централних вена и синусоида, као и свака патохистолошка промена у зонама 1 (перипортни простор), 2 (средњи, интралобуларни сегмент) и 3 ацинуса (перивенуларни простор).

Некроинфламаторна активност и стадијум пролиферисалог везива процењивани су према раније дефинисаним референтним препорукама (356,359).

Некроинфламаторну активност дефинише збир интензитета три микроморфолошке промене:

- масне промене
- балонирајуће дегенерације хепатоцита
- интралобуларне запаљенске инфилтрације

Процена је семиквантитативна, делом и субјективна, базирана на искуству истраживача. Сваки од три параметра, анализирају се и процењује одвојено, да би на крају опис некроинфламаторне активности чинио збир градуса; масне промене, балонирајуће дегенерације и интралобуларне запаљенске инфилтрације, описане у табели број 10.

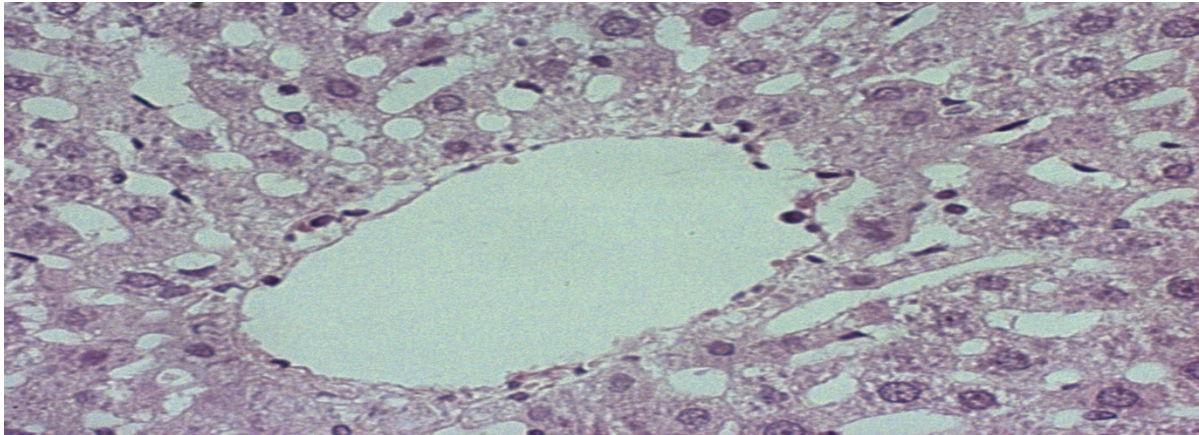
Табела бр. 10. Скор некроинфламаторне активности

А	Б	Ц	А+Б+Ц= АКТИВНОСТ
1	1	1	
2	2	2	
3		3	

3.6. Процена масне дегенерације

Масна промена подразумева вакуолизацију цитоплазме увећаних хепатоцита. У цитоплазми се уочавају веће вакуоле које потискују једро на периферију ка ћелијској мембрани (крупнокапљична масна промена) или чешће, уочавају се дискретне, мале, светле везикуле у бледо еозинофилној цитоплазми што хепатоциту даје такозвани вакуолизиран или микровезикуларан аспект (Слика број 4).

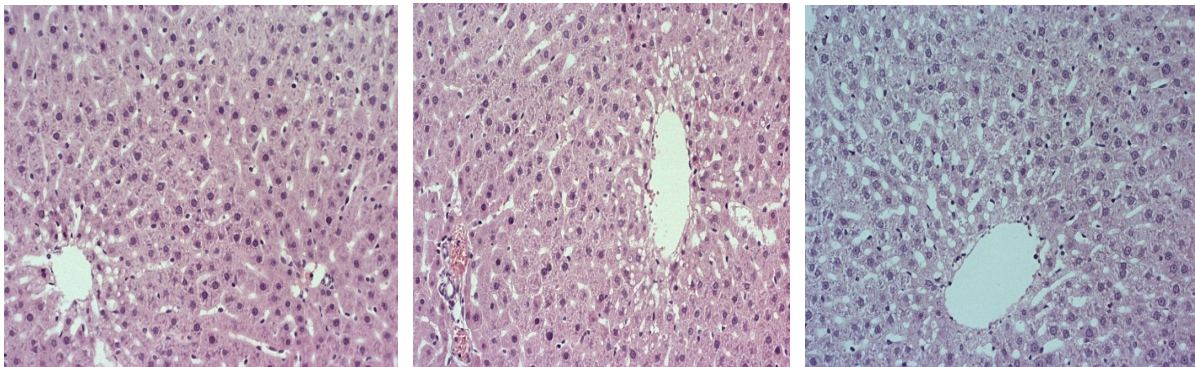
Слика број 4. Масна промена: вакуолизација цитоплазме хепатоцита (Н&Е бојење, оригинално увељичање, х63)



Процена интензитета масне промене је тростепена (1-3). Ако масна промена захвата до трећину лобулуса (< 33%) оцењује се степеном 1 (слика број 5.а), до две трећине захваћен лобулус (33–66%) је степен 2 (слика број 5.б), а као степен 3 (слика број 5.ц) се градира масна промена присутна у више од две трећине лобулуса (> 66 %). Одсуство масне промене бодује се нулом.

Слике број 5. Градирање масне промене према степену захваћености лобулуса (Н&Е бојење, оригинално увељичање, х40)

5.а < 33% лобулуса (степен 1) 5.б 33-66 % лобулуса (степен 2) 5.ц > 66 % лобулуса (степен3)

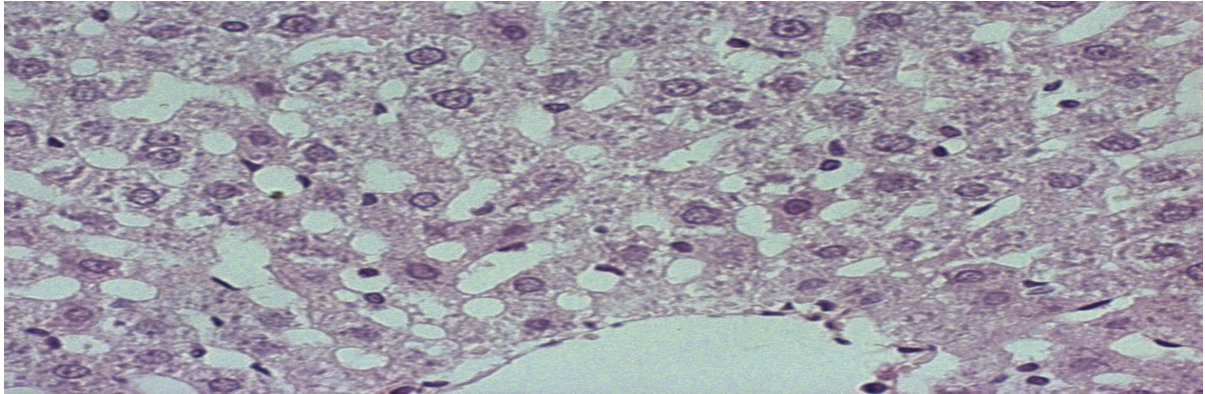


3.7. Процена балонирајуће дегенерације

Балонирајућа денерација је најчешћи облик дегенерације и некрозе хепатоцита у не алкохолној болести јетре и не алкохолном стеатохепатитису. Балонирајући хепатоцит је два или више пута већи од суседних очуваних хепатоцита, цитоплазма је пахуљичасто гранулирана, бледо еозинофилна, а једно је или пикнотично, скврчено или кариорексно, фрагментирано (слика број 9).

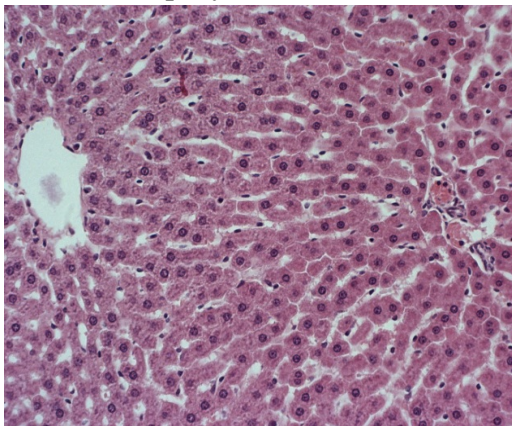
Уколико је балонирајућа дегенерација лакостепена оцењује се градусом 1, а уколико је изражена и захвата већи број хепатоцита градира се као 2 (слике бр. 6 а и слика бр. 6 б).

Слика број 6. Балонирајућа дегенерација хепатоцита (Н&Е бојење, оригинално увећанање x 63)

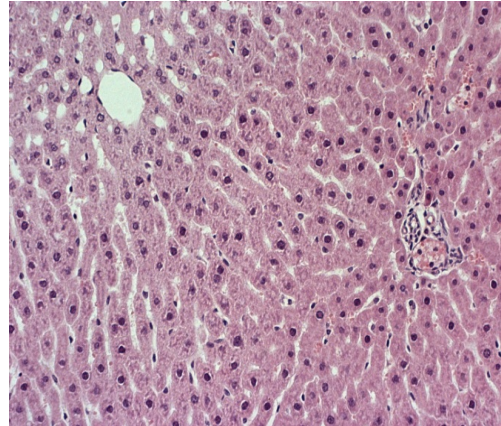


Слика 6 а и 6 б : лак (градус 1) и тежак степен (градус 2) балонирајуће дегенерације (Н&Е бојење, оригинално увећанање x40)

Слика 6 а -градус 1



Слика 6 б -градус 2

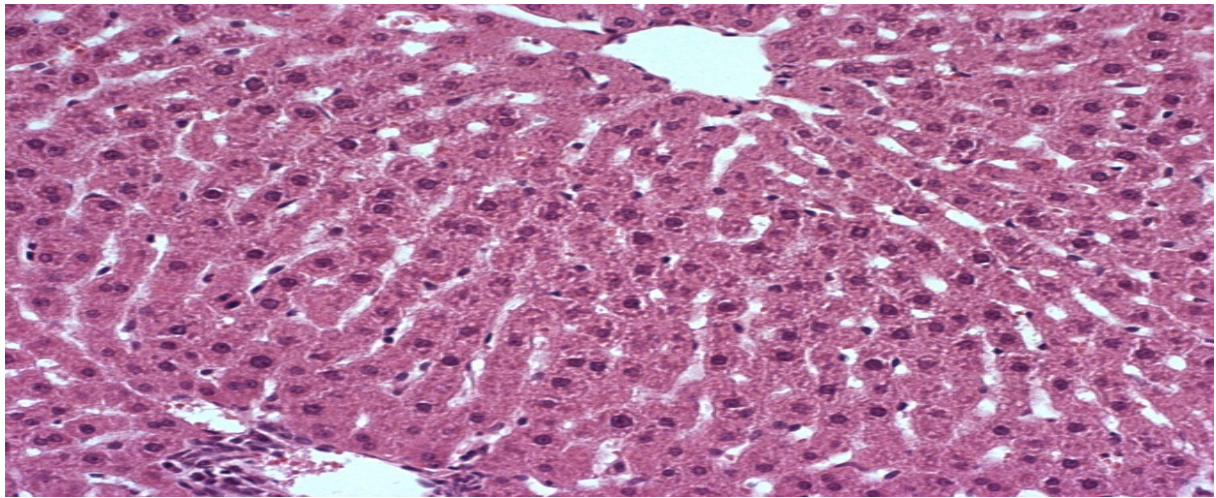


3.8. Процена интралобуларних промена

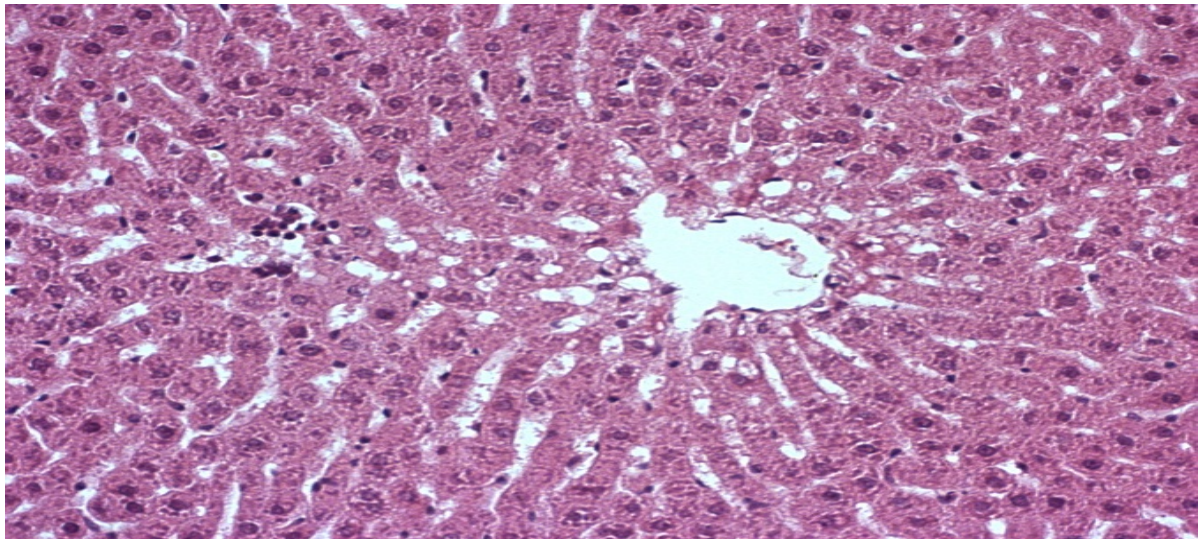
Интензитет запаљенске инфилтрације се процењује на основу броја запаљенских мононуклеарних ћелија у синусоидалним просторима лобулуса прегледом 20 суседних поља великог микроскопског увећанања.

Лакостепена (оцена 1) запаљенска инфилтрација подразумева присуство до 2 фокуса (слика број 7 а), умерена (оцена 2) је са 2 до 4 фокуса (слика број 7 б) и тешка (оцена 3) је са уочених више од 4 фокуса (слика број 7 ц).

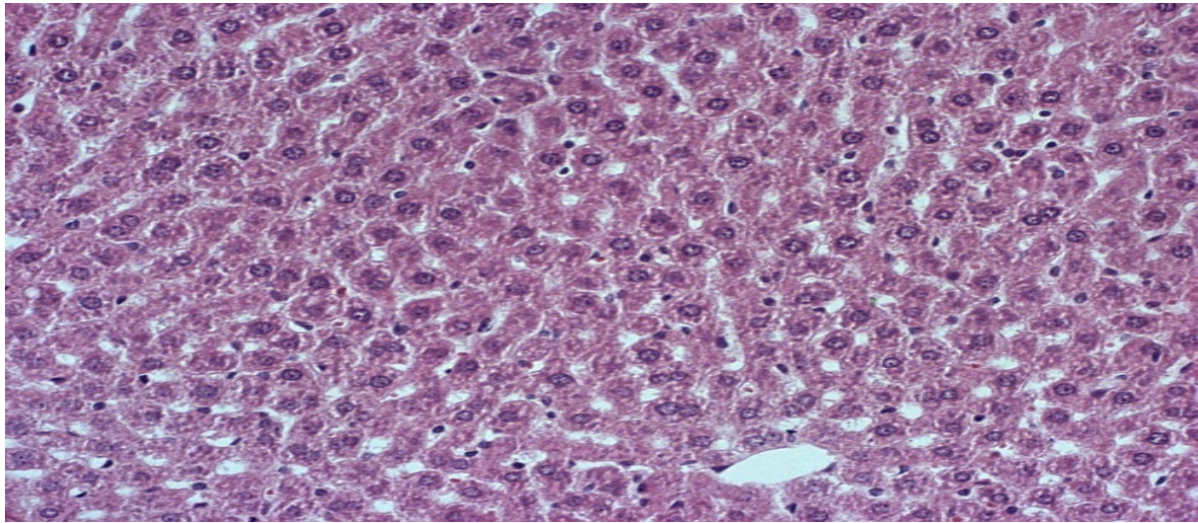
Слика број 7 а. Лакостепена запаљенска инфилтрација лобулуса (1 поен)
(Н&Е бојење, оригинално увељичање x 40)



Слика број 7б. Умерена запаљенска инфилтрација лобулуса (2 поена)
(Н&Е бојење, оригинално увељичање x 40)



Слика број 7 ц. Изражена запаљенска инфилтрација лобулуса (3 поена)
(Н&Е бојење, оригинално увећање x40)

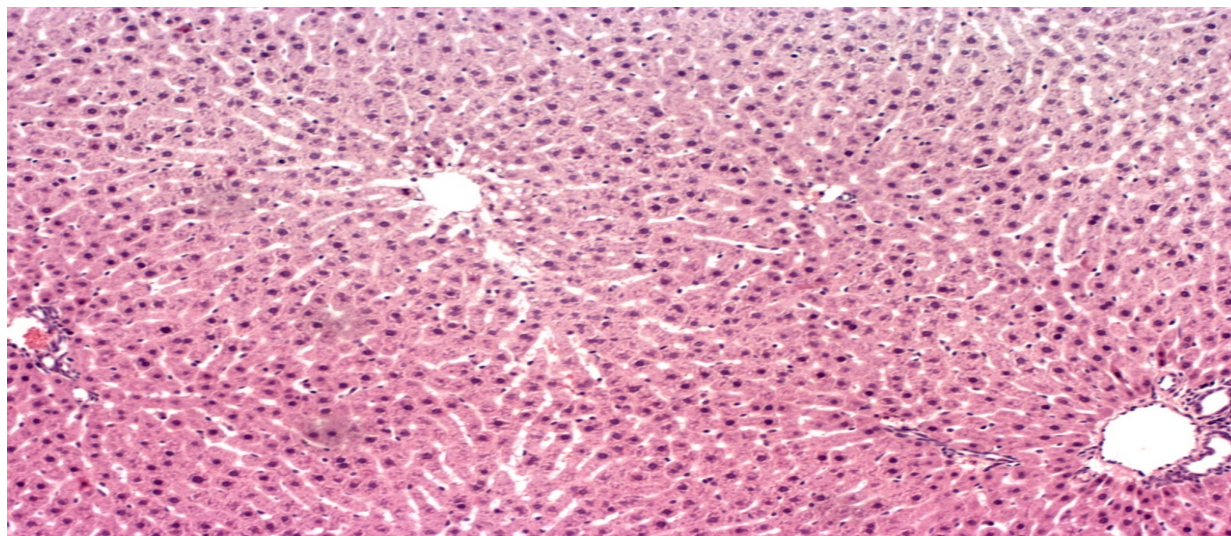


Поред масне промене, балонирајуће дегенерације и лобуларне запаљенске инфилтрације као основних микроморфолошких параметара за процену неалкохолног стеатохепатитиса (слика број 8), микроскопским прегледом уочене су и друге патохистолошке промене.

Конгестија (слика број 9 б) различитог степена је континуирано присутна, спорадично са видљивим еозинофилним садржајем у синусоидима и лумену централне вене. Често је присутна мононуклеарна инфилтрација проширених портних простора различите густине, са и без преливања у перипортни простор (слика број 9 в), уз фокално формирање мононуклеарних агрегата налик грануломима (слика број 9 г).

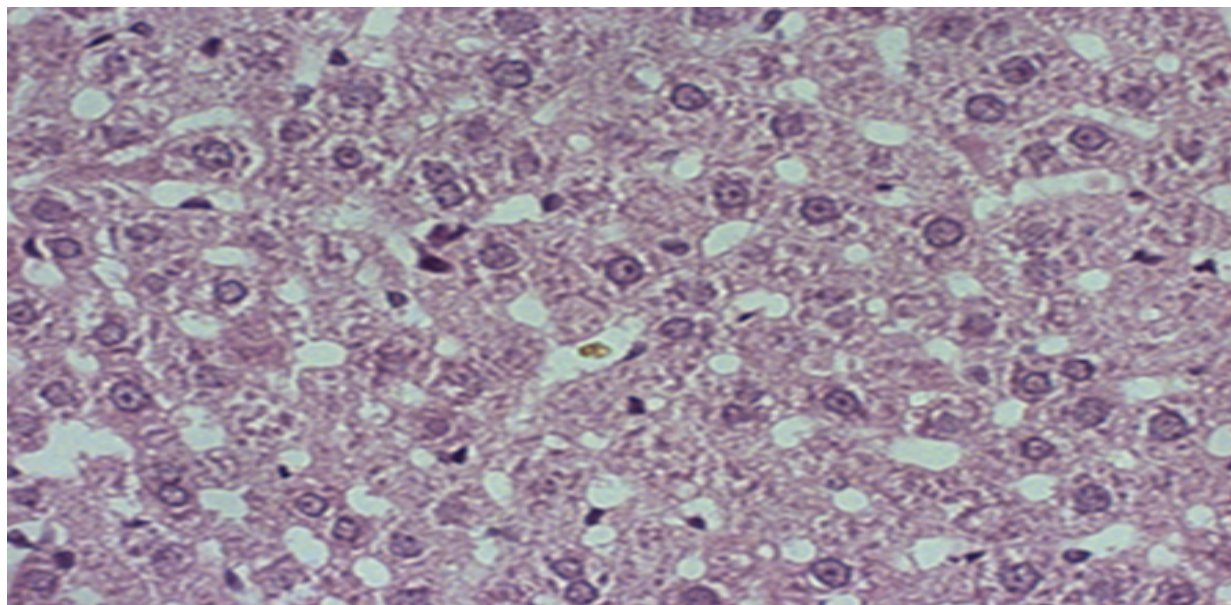
Знаци холестазе су фокалног карактера, нотирани су само код појединих контролних и експерименталних група, најчешће су у виду холатостазе, умножавања жучних каналића и појаве билијарних тромба (слика број 9 а). Такође, уочавају се хиперплазија Купферових ћелија, адаптивна *ground glass* промена (слика број 9 д) и гликогенизација једара (слика број 9 њ).

Слика број 8. Неалкохолни стеатохепатитис: масна промена, балонирајућа дегенерација и запаљенска инфилтрација. (H&E бојење, оригинално увећање x 20)

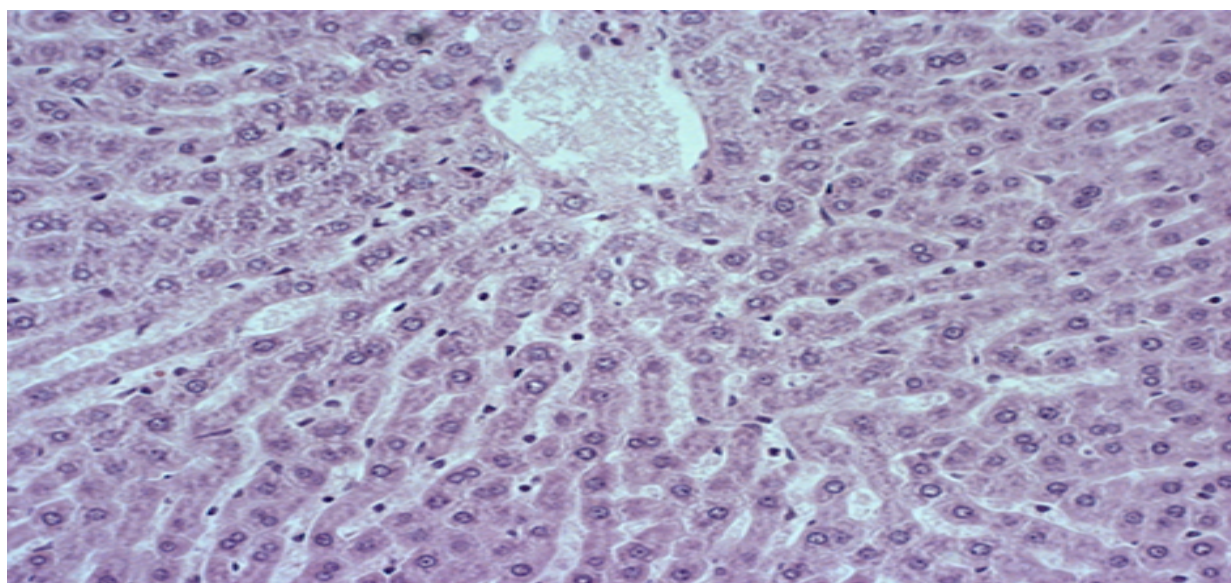


Слике број 9 а-ђ. Пратеће хистопатолошке промене у неалкохолном стеатохепатитису (H&E бојење, оригинално увећање, x 40)

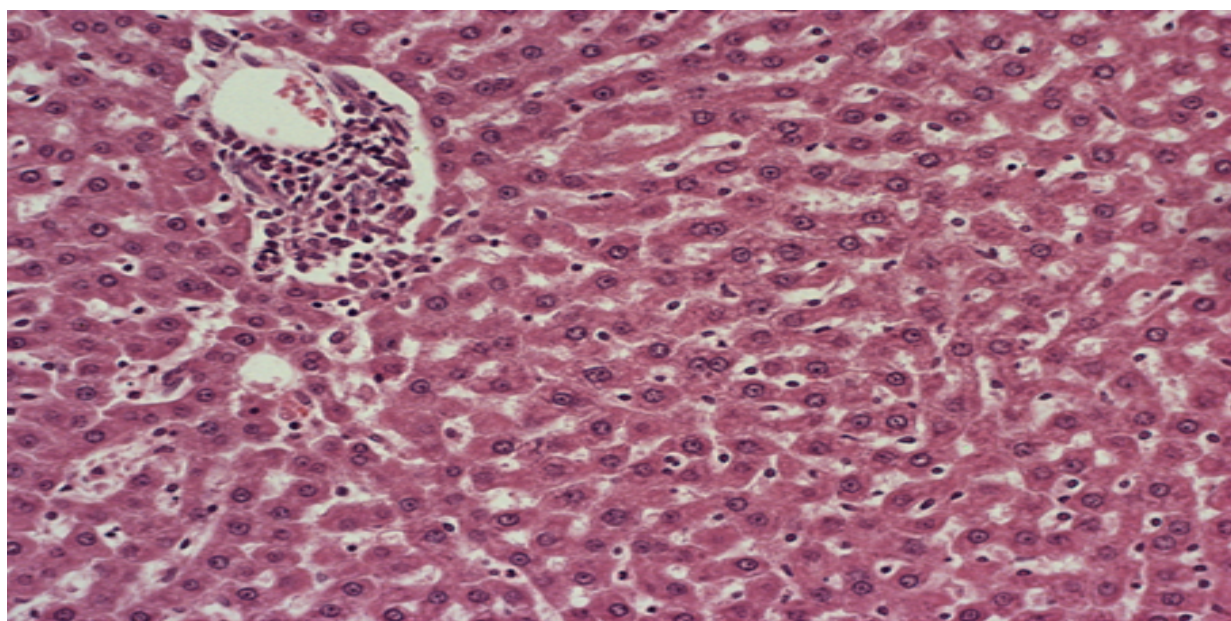
Слика број 9 а. Знаци холестазе-жучни тромб



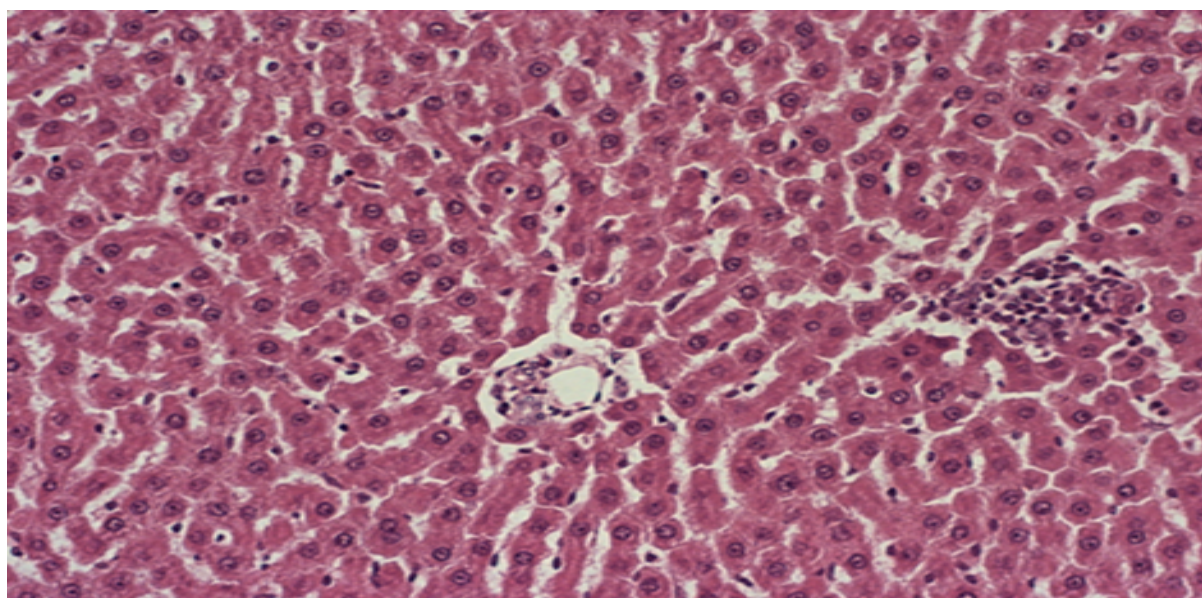
Слика број 9 б. Конгестија



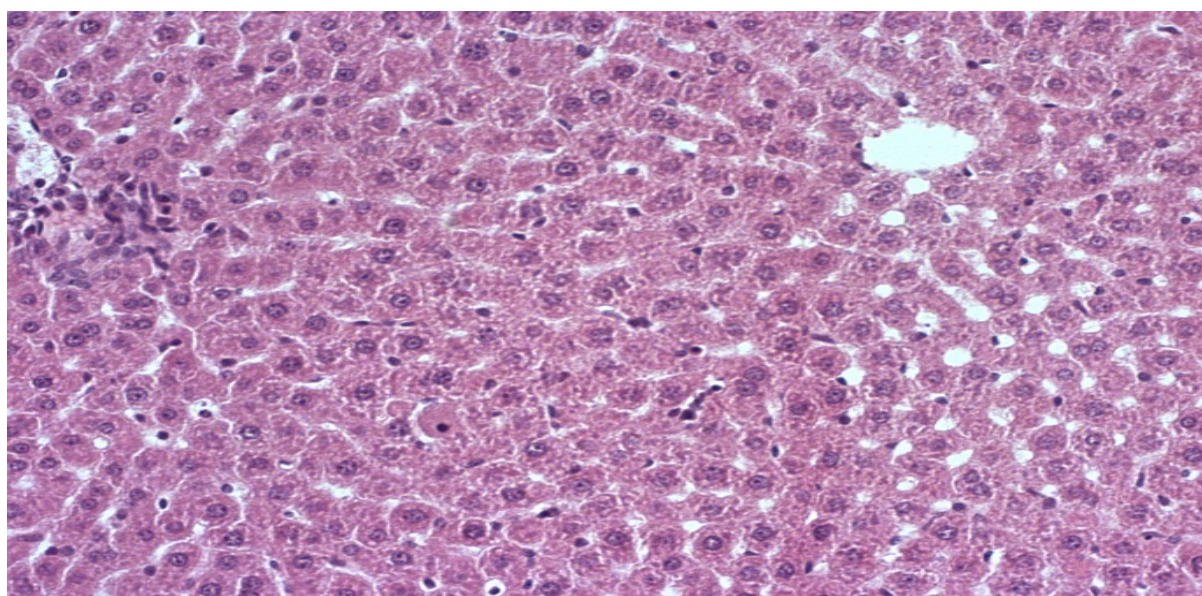
Слика број 9 в. Инфилтрација портног простора



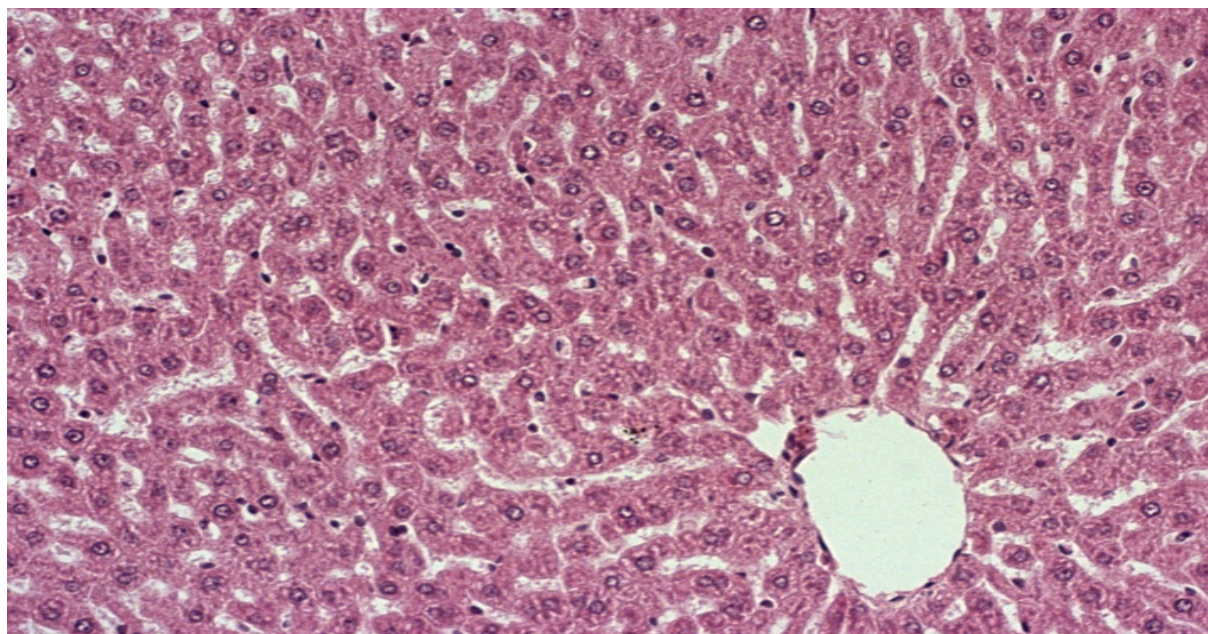
Слика број 9 г. Формирање гранулома



Слика број 9 д. Адаптивна „ground glass“ промена



Слика број 9 њ. Гликогенизација једара



3.9. Процена фиброзних промена

За детекцију степена и локализације везива у паренхиму јетре, због боље визуелизације, анализирани су препарати бојени специјалним хистохемијским техникама: *Sirius red* и *Masson trichrome*. Стадијуми фиброзе су описани у табели број 10.

Везивна влакна, у виду црвених или плавих нити, тањих или дебљих, краћих или дужих, локализована су перичелуларно или перисинусоидално (слика број 10 б), у зиду централне вене, у зони 3 ацинуса перивенуларно (слика број 10 в), у портним просторима и перипортно, у зони 1 (слика број 10 г).

Некада се везивна влакна у виду моста пружају од портних простора ка суседним тријадама или централним венама што даје слику премошћавајуће (*bridging*) фиброзе (слика број 10 њ).

Уколико паралелно са везивном септирајућом пролиферацијом постоји и нодуларна регенерација паренхима јетре онда је фиброза у четвртном стадијуму вероватне или сигурне цирозе. Одсуство или присуство врло дискретних везивних нити означава се нултим стадијумом (слика број 10 а). Између ове две крајности, распоређена су још три стадијума, трећи са премошћавајућом (*bridging*) фиброзом и други са удруженом портном/ перипортном и перисинусоидалном фиброзом (слика број 10 д).

Први стадијум је степенован на 1а са дискретном (слика број 10 б) и 1б умереном (слика број 10 в), фиброзом у зони 3 перивенуларно, перисинусоидално или перичелуларно, док стадијум 1 ц означава само присуство везива у портној тј. перипортној зони (слика број 10 г).

У складу са овим разликама, како би се постигао ефекат различитости у коначном скору у патохистолошкој процени фиброзе, стадијум 1a је оцењен као 1, 1b као 1,3, а 1c стадијум као 1,6.

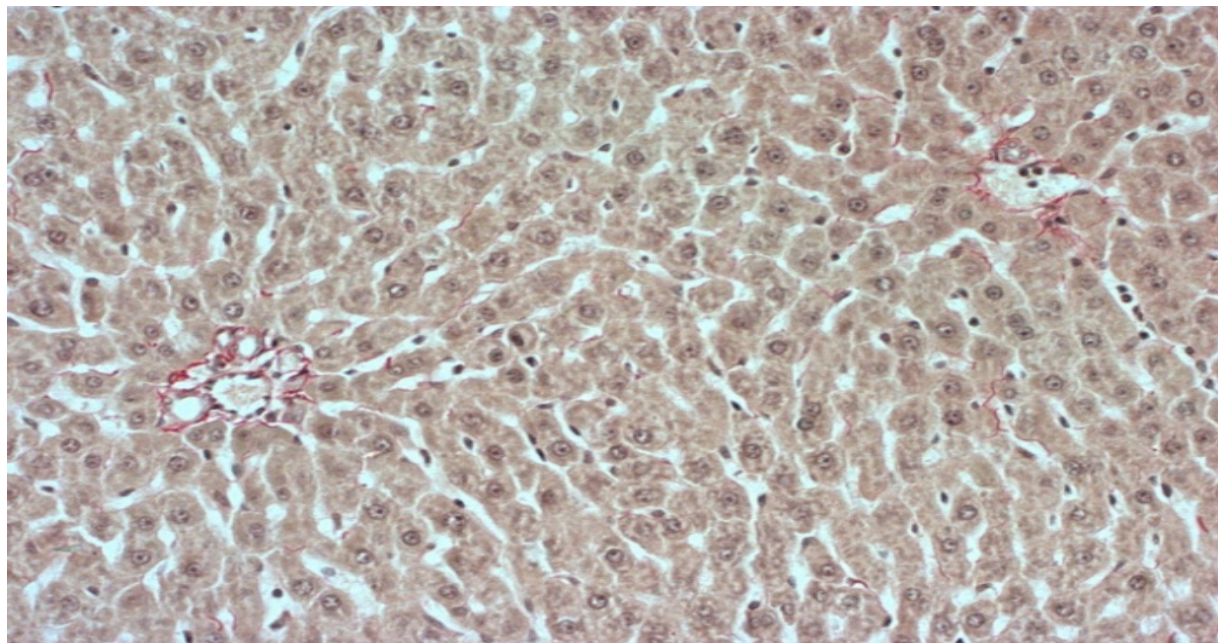
Табела бр. 10 - Процена стадијума фиброзе

Скала	СТАДИЈУМИ ФИБРОЗЕ:
0	одсутна, нема фиброзе;
1a	дискретна, зона 3 перивенуларна, перисинусоидална или перицелуларна;
1b	умерена, зона 3 перивенуларна, перисинусоидална или перицелуларна;
1c	само портна/периортна фиброза;
2	зона 3 перисинусоидална и портна/перипортна фиброза;
3	“премошћавајућа“ (<i>bridging</i>) фиброза;
4	цироза, вероватна или дефинитивна.

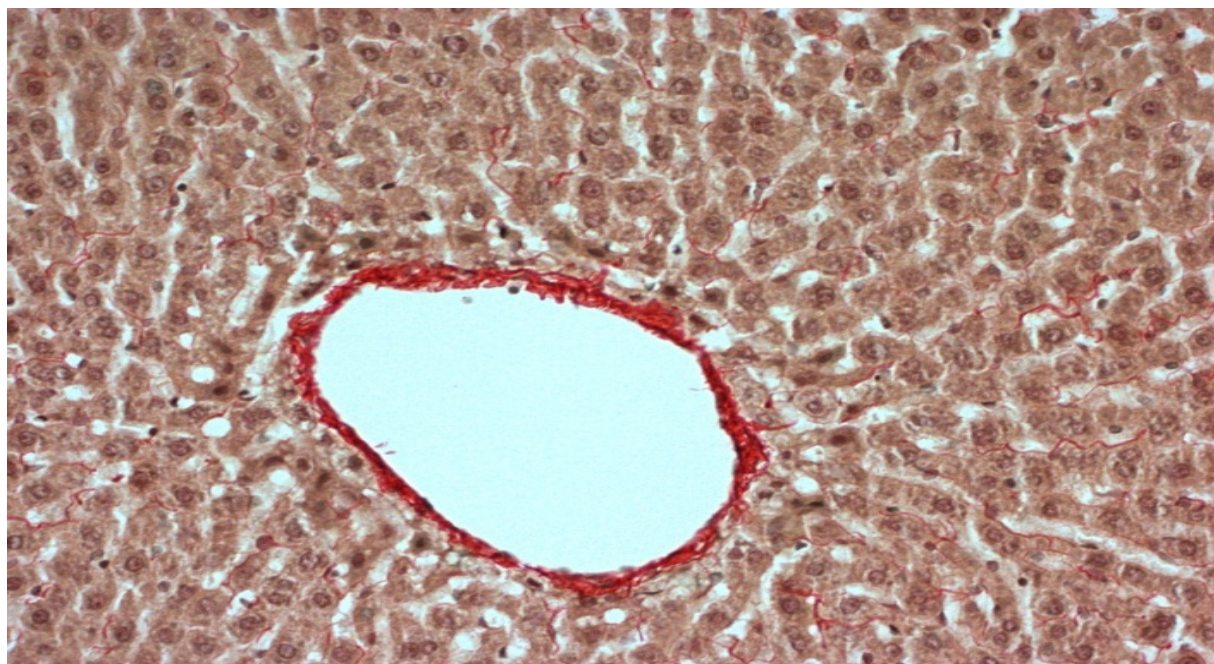
Процена стадијума болести (фиброза) – Неалкохолна стеатоза јетре НАСХ

Слика број 10 а-ђ : Стадијуми фиброзе (Sirius red бојење, оригинално увећање, x 40)

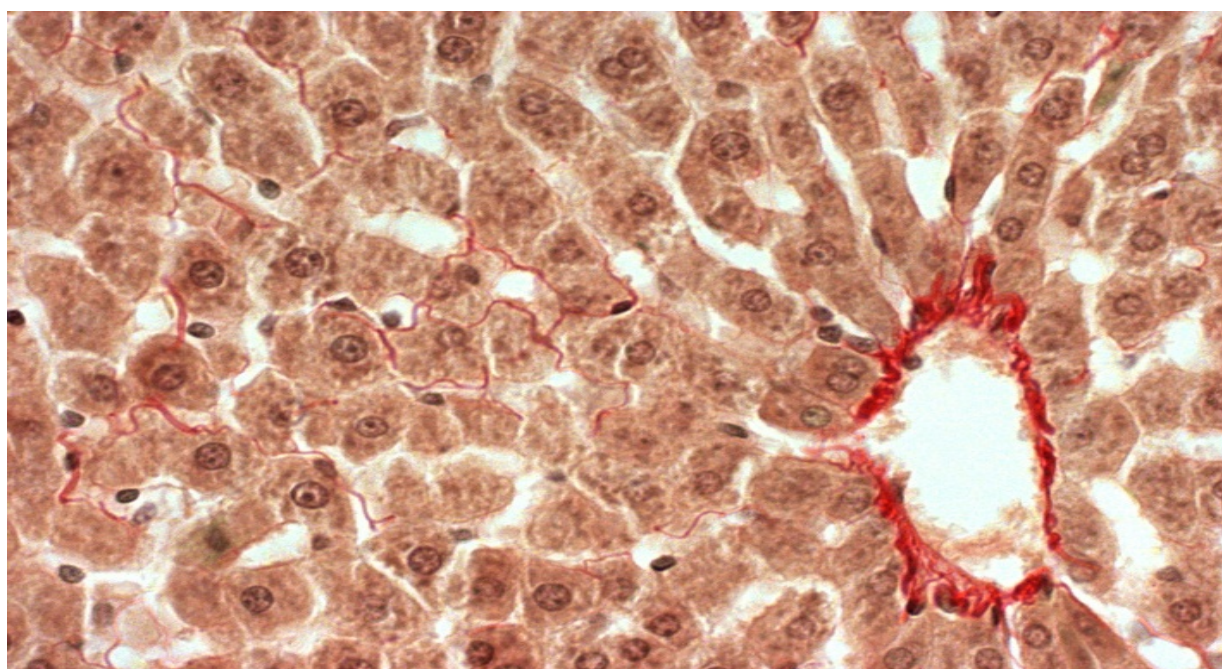
Слика број 10 а. Фиброза одсутна (0)



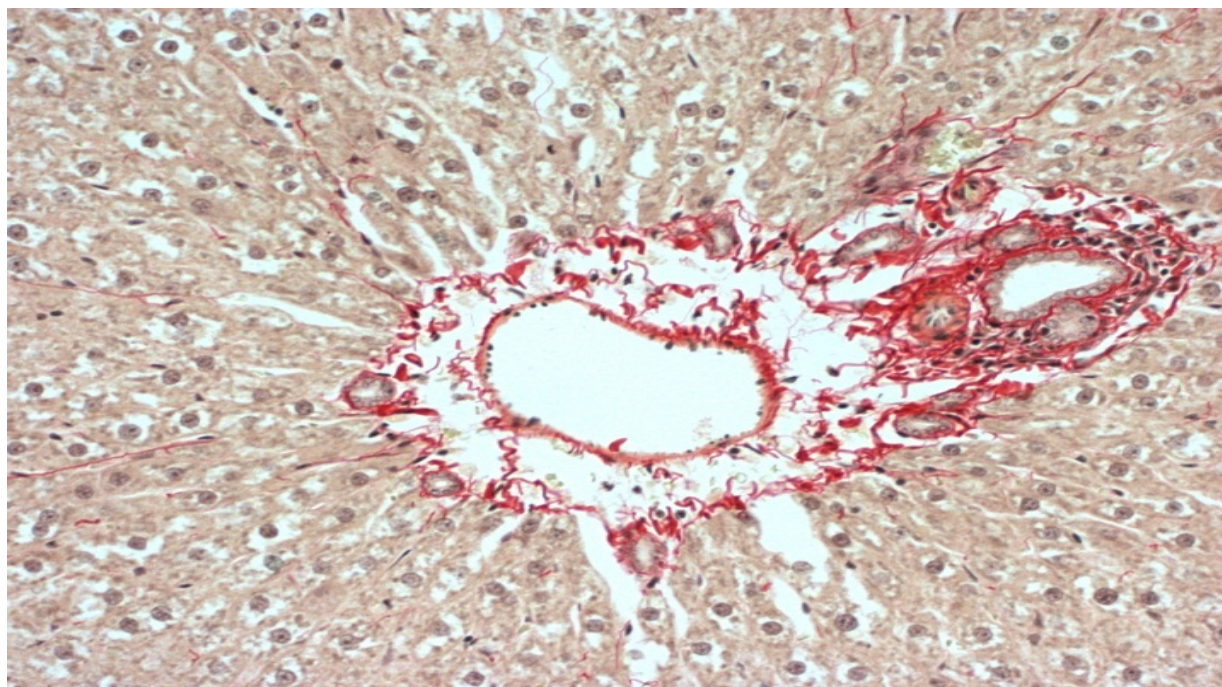
Слика број 10 б. Зона 3, фиброза дискретна (1а)



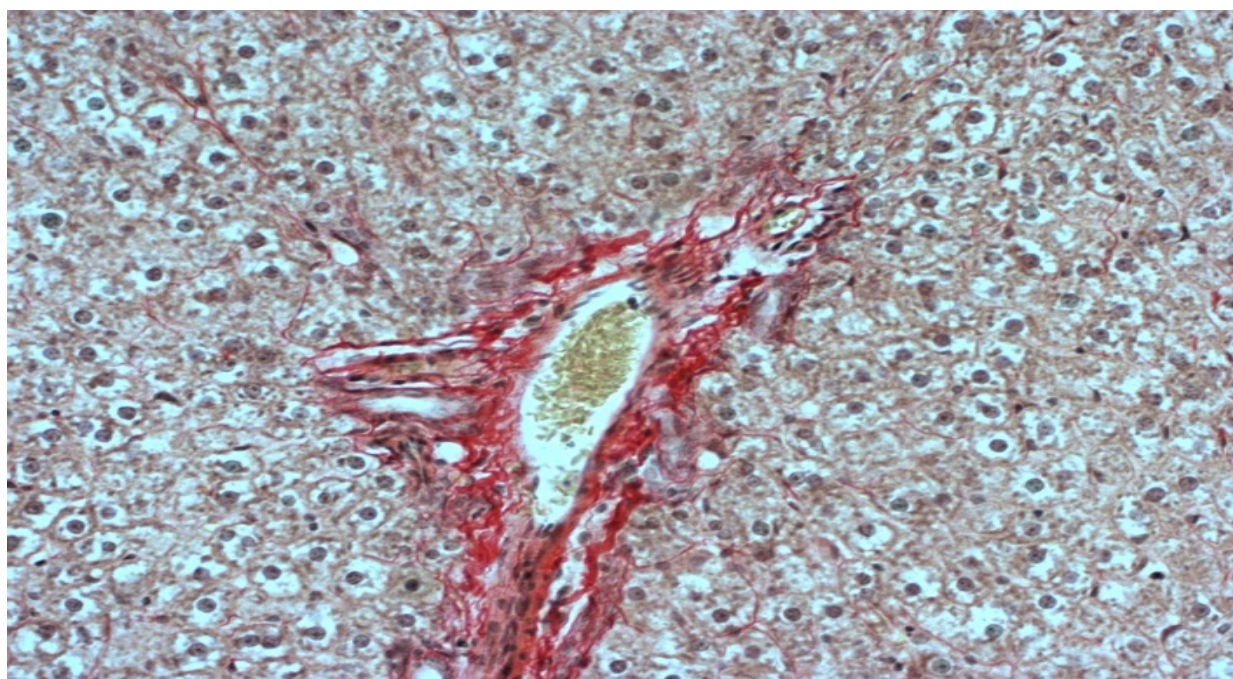
Слика број 10 в. Зона 3, фиброза умерена (1б)



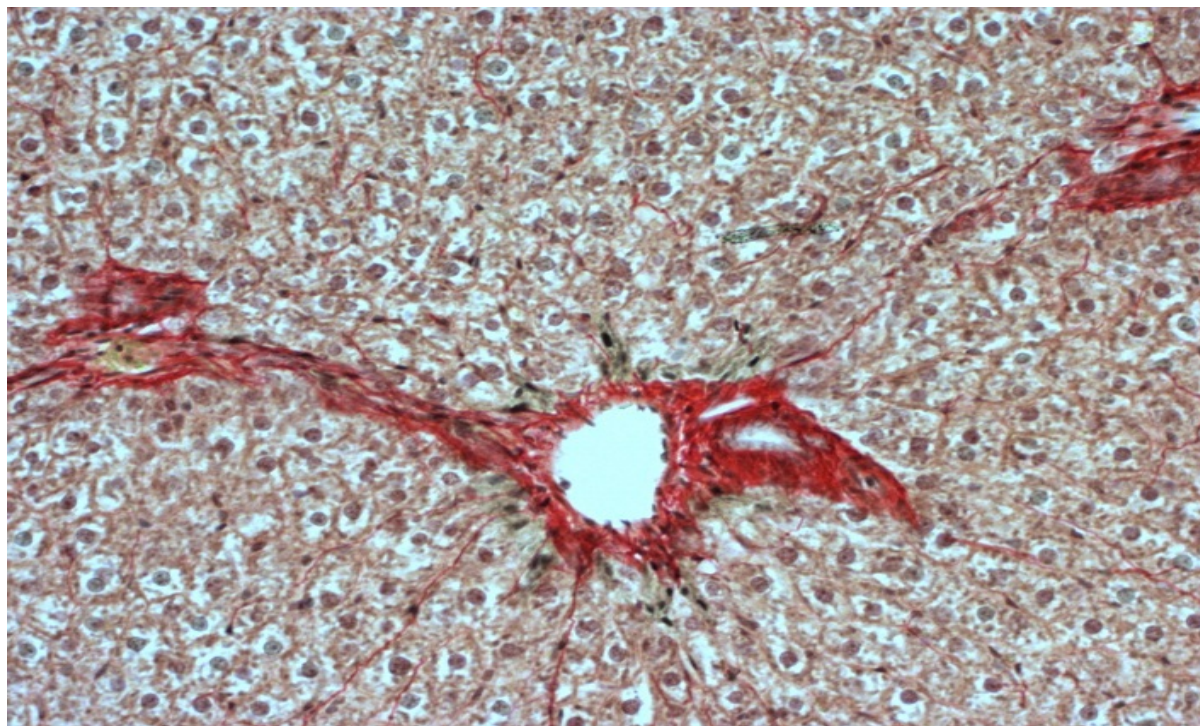
Слика број 10 г. Фиброза портна/периортна (1ц)



Слика број 10 д. Зона 3 и перипортна фибриза (2)



Слика број 10 ђ . “Премошћавајућа“ фиброза



3.10. Биохемијска испитивања

У току изоловања јетре, део ткива се користио за припрему хомогената ткива из којег су одређивани параметри оксидационог стреса (супероксид анјон радикал O_2^- , водоник пероксид H_2O_2 , индекс липидне пероксидације TBARS, нитрити NO_2^-), и параметри антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH).

У тренутку жртвовања животиње, употребом гиљотине, животињи је узимана крв искрвављењем. Из узете крви су издвајају серум, плазма и еритроцити.

Из пуне крви је одређиван ниво глукозе.

Из узорка серума одређивани су биохемијски параметри: укупни холестерол, HDL-холестерол, LDL-холестерол, триглицериди, инсулин, укупни билирубин, аспартат аминотрансфераза (AST), аланинаминотрансфераза (ALT), гама глутамил трансфераза (γ GT) (360).

За процену системског редокс статуса, из узорка плазме мерени су нивои про-оксидационих параметара (TBARS-а, NO_2^- , O_2^- , H_2O_2), а у еритроцитима су анализирани вредности параметара антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH).

При експерименталном раду испоштовани су прописи о добробити лабораторијских животиња и правилника за рад са експерименталним животињама

Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, који су усклађени са Европском директивом у овој области.

3.11. Статистичка обрада података

За статистичку обраду резултата је коришћен статистички програм SPSS 22.0 for Windows. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.

За испитивање разлика између група користиће се тестови једнофакторске и двофакторске анализе варијансе (АНОВА, „*Kruskall-Wallis*“) са одговарајућим *post-hoc* тестовима: „*Bonferroni Scheffe*“ или „*Tukey*“ тест. За тестирање повезаности између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се „*Pearson*“-ов или „*Spearman*“-ов коефицијент корелације. Статистичким прагом значајности сматрала се вредност од 0,05.

РЕЗУЛТАТИ

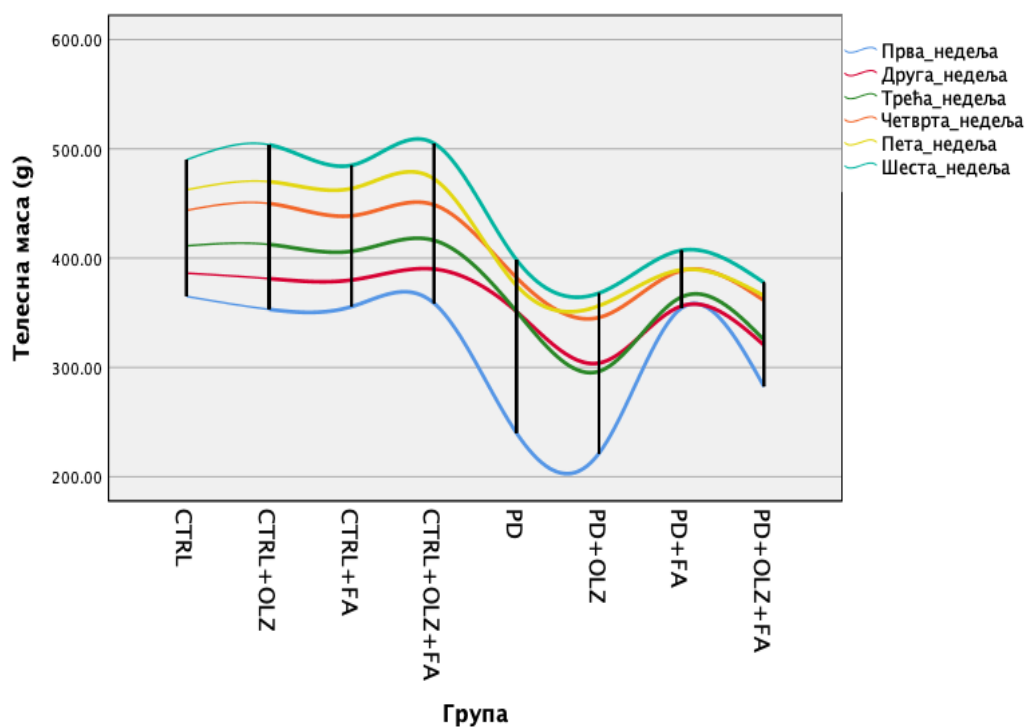
4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Телесна тежина пацова током експерименталног периода

У првом делу истраживања, пратили смо промене у телесној маси пацова током истраживања и третмана у трајању од 6 недеља. Примећено је да је интензиван и константан раст присутан током целог трајања истраживања и то у групама које су биле на стандардној храни. Поред тога, примећено је интензивније добијање у тежини у CTRL+OLZ и CTRL+OLZ+FA групама у поређењу са осталим групама и то у шестој недељи третмана оланзапином (графикон бр 2)

У групама на исхрани обогаћеној протеинима приметан је слабији и успорен раст добијања у тежини (графикон број 2)

Графикон број 2. Динамика промене телесне масе (грам) пацова током третмана/експерименталног периода



4.2. Телесна тежина пацова приказана по недељама трајања експеримента (прва до шесте недеље)

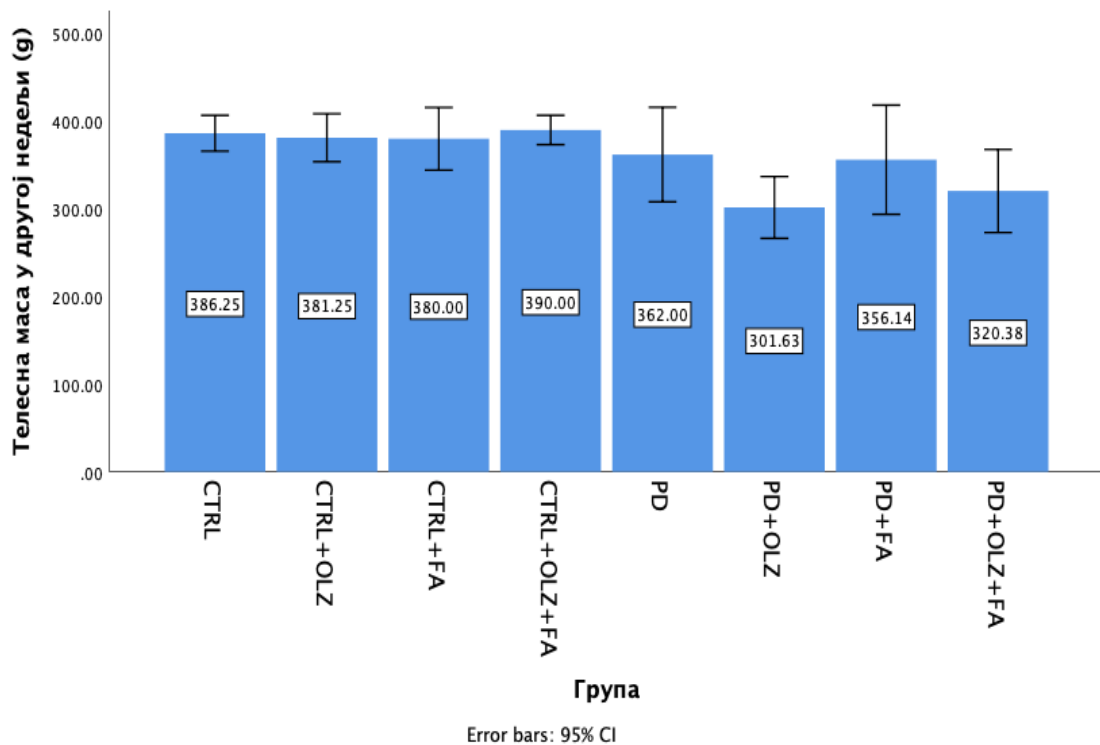
Како би се детаљније анализирано шта се дешава са променама у телесној тежини током истраживања и примене различитих третмана, упоређиване су промене у телесној маси након сваке експерименталне недеље (1—6 недеље).

Друга недеља третмана

Након друге недеље третмана, приметан је значајан пад односно значајно ниже вредности телесне масе у групама које су биле на протеинској исхрани у односу на оне које то нису (графикон 3, табела 11 и 12 а и б).

Средње вредности телесне масе по недељама и групама приказане су графички. Статистичке значајности добијене су поређењем група појединачно за сваку недељу и приказане су у табели број 11 и табели број 12 а и б.

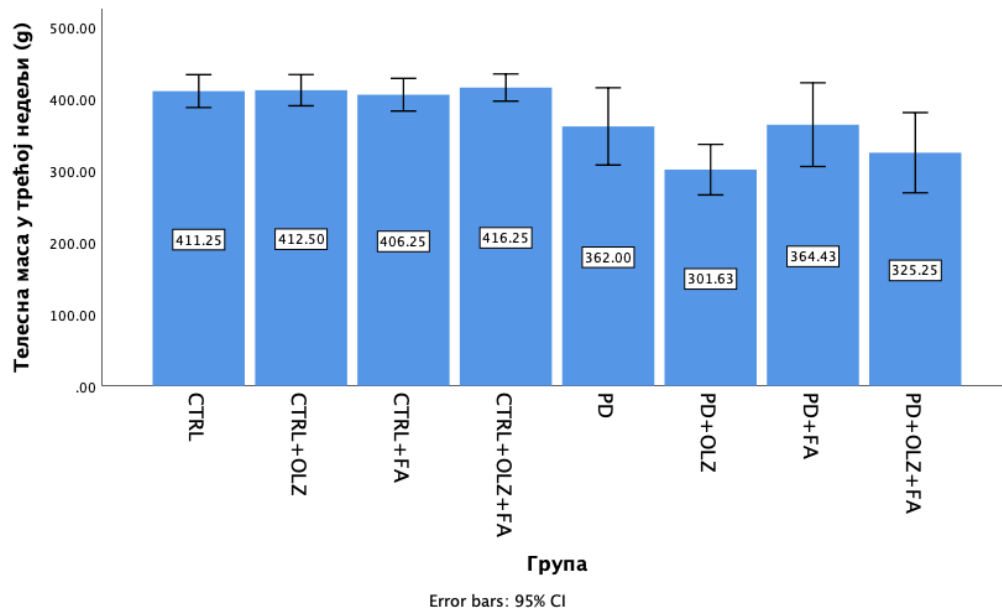
Графикон број 3. Просечна телесна маса пацова у грамима у односу на третман и групу на крају друге недеље експерименталног периода



Трећа недеља третмана

Након треће експерименталне недеље, динамика промене телесне масе је идентична као на крају друге недеље, у смислу мањег напредовања пацова на протеинској исхрани (графикон број 4, табеле 11 и 12 а и б). Затим, слично је и у четвртој недељи (Графикон број 4, Табеле 11 и 12 а и б).

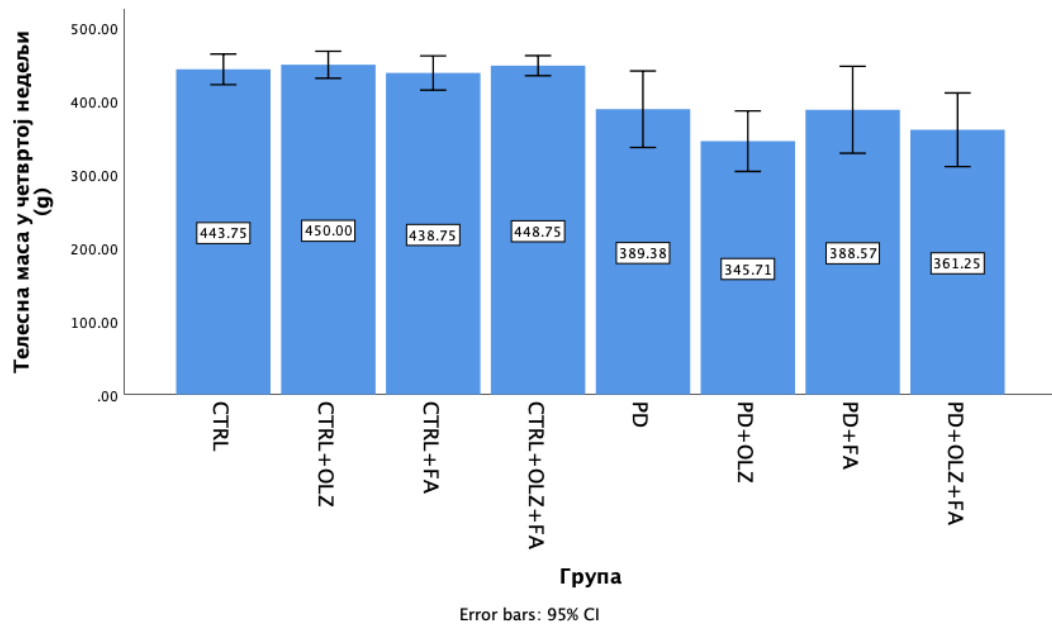
Графикон број 4. Просечна телесна маса пацова у грамама у односу на третман и групу на крају треће недеље експерименталног периода



Четврта недеља третмана

Након четврте експерименталне недеље, динамика промене телесне масе је идентична као на крају друге и треће недеље, у смислу мањег напредовања у маси пацова који су били на протеинској исхрани (графикон број 5, табеле 11 и 12 а и б).

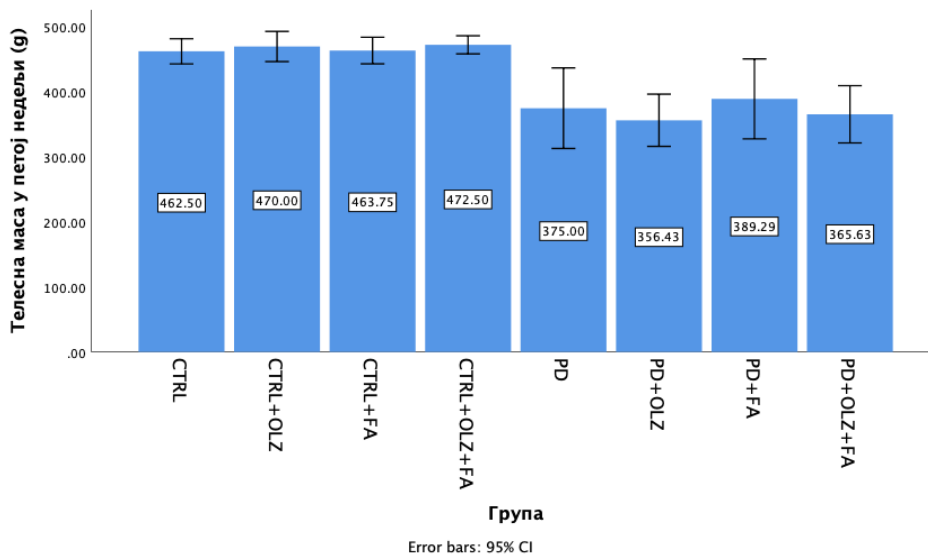
Графикон број 5. Просечна телесна маса пацова у грамама у односу на третман и групу на крају четврте недеље експерименталног периода



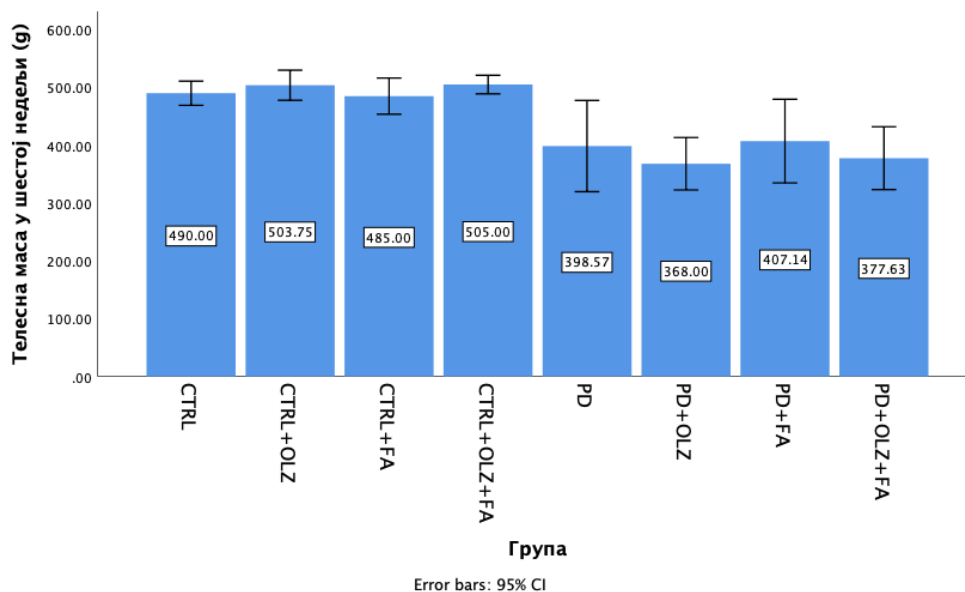
Пета недеља третмана

На крају пете и шесте недеље истраживања, и даље је евидентан пад у телесној маси односно ненапредовање у маси у групама на протеинској исхрани и овај пад је израженији у односу на пацове који су третирани стандардном храном (графикон број 6, графикон број 7, табеле 11 и 12 а и б). Пацови на стандардној храни су имали драстично веће добијање у тежини крајем истраживања у односу на остале експерименталне групе.

Графикон број 6. Просечна телесна маса пацова у грамима у односу на третман и групу на крају пете недеље експерименталног периода



Графикон број 7. Просечна телесна маса пацова у грамима у односу на третман и групу на крају експерименталног периода



У табели број 11 приказане су статистичке значајности које јасно указују да је у свим групама током шест недеља дошло до промена у телесној маси у односу на почетне вредности односно почетну телесну масу пре почетка истраживања, што је било и очекивано.

Табела број 11. Поређење средњих вредности телесне масе пацова током шестонедељеног експерименталног периода. Статистичка значајност утврђена је АНОВА анализом и Tukey Post Hoc тестом. Статистички праг утврђен је на 0,05.

АНОВА табела		Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Прва недеља	Између група	194074,306	7	27724,901	18,294	0
	Унутар групе	83352,679	55	1515,503		
Друга недеља	Између група	59479,821	7	8497,117	3,939	0,002
	Унутар групе	118657,607	55	2157,411		
Трећа недеља	Између група	108192,633	7	15456,09	7,343	0
	Унутар групе	115773,589	55	2104,974		
Четврта недеља	Између група	95085,901	7	13583,7	7,024	0
	Унутар групе	104429,018	54	1933,871		
Пета недеља	Између група	144369,548	7	20624,221	10,978	0
	Унутар групе	99566,518	53	1878,614		
Шеста недеља	Између група	188328,381	7	26904,054	9,629	0
	Унутар групе	148089,946	53	2794,15		

У Табели број 12 а и 12 б су приказане су статистичке значајности добијене међусобним поређењем група за сваку недељу.

Доминанте су разлике у групама које су користиле храну богату протеинима (PD+OLZ) и (PD+OLZ+FA) у односу на остале групе, а нарочито у односу на контролне групе односно групе пацова које су храњене стандардном храном за пацове. Губитак телесне масе је евидентан од почетка па до краја испитивања и видљив је по свим недељама испитивања

Табела бр. 12 а. Међусобно поређење средњих вредности у односу на контролну групу приказану по недељама. Статистичка значајност утврђена је АНОВА анализом и „Tukey Post Hoc“ тестом. Статистички праг утврђен је на 0,05.

Група		Експериментална недеља (p вредности)					
CTRL	CTRL+OLZ	I	II	III	IV	V	VI
CTRL	CTRL+OLZ	0,999	1	1	1	1	1
	CTRL+FA	1	1	1	1	1	1
	CTRL+OLZ+FA	1	1	1	1	1	0,999
	PD	0	0,965	0,399	0,229	0,006	0,031
	PD+OLZ	0	0,013	0	0,002	0	0,001
	PD+FA	0,999	0,912	0,51	0,251	0,038	0,068
	PD+OLZ+FA	0,002	0,107	0,01	0,01	0,001	0,002
CTRL+OLZ	CTRL	0,999	1	1	1	1	1
	CTRL+FA	1	1	1	1	1	0,996
	CTRL+OLZ+FA	1	1	1	1	1	1
	PD	0	0,991	0,367	0,128	0,002	0,007
	PD+OLZ	0	0,024	0	0,001	0	0
	PD+FA	1	0,965	0,475	0,145	0,015	0,018
	PD+OLZ+FA	0,014	0,171	0,008	0,004	0	0
CTRL+FA	CTRL	1	1	1	1	1	1
	CTRL+OLZ	1	1	1	1	1	0,996
	CTRL+OLZ+FA	1	1	1	1	1	0,995
	PD	0	0,994	0,538	0,342	0,005	0,049
	PD+OLZ	0	0,028	0,001	0,003	0	0,002
	PD+FA	1	0,974	0,648	0,365	0,033	0,105
	PD+OLZ+FA	0,009	0,19	0,018	0,018	0,001	0,004
CTRL+OLZ+FA	CTRL	1	1	1	1	1	0,999
	CTRL+OLZ	1	1	1	1	1	1
	CTRL+FA	1	1	1	1	1	0,995
	PD	0	0,927	0,279	0,145	0,002	0,006
	PD+OLZ	0	0,008	0	0,001	0	0
	PD+FA	1	0,85	0,378	0,163	0,011	0,016
	PD+OLZ+FA	0,006	0,073	0,005	0,005	0	0

Табела 12. б. Међусобно поређење средњих вредности у односу на протеинску експерименталну групу приказану по недељама. Статистичка значајност утврђена је АНОВА анализом и „Tukey Post Hoc“ тестом. Статистички праг утврђен је на 0,05.

Група		Експериментална недеља (p вредности)					
		I	II	III	IV	V	VI
PD	CTRL	0	0,965	0,399	0,229	0,006	0,031
	CTRL+OLZ	0	0,991	0,367	0,128	0,002	0,007
	CTRL+FA	0	0,994	0,538	0,342	0,005	0,049
	CTRL+OLZ+FA	0	0,927	0,279	0,145	0,002	0,006
	PD+OLZ	0,901	0,178	0,167	0,545	0,992	0,958
	PD+FA	0	1	1	1	0,998	1
	PD+OLZ+FA	0,497	0,628	0,747	0,903	1	0,994
PD+OLZ	CTRL	0	0,013	0	0,002	0	0,001
	CTRL+OLZ	0	0,024	0	0,001	0	0
	CTRL+FA	0	0,028	0,001	0,003	0	0,002
	CTRL+OLZ+FA	0	0,008	0	0,001	0	0
	PD	0,901	0,178	0,167	0,545	0,992	0,958
	PD+FA	0	0,33	0,162	0,608	0,845	0,86
	PD+OLZ+FA	0,036	0,992	0,968	0,997	1	1
PD+FA	CTRL	0,999	0,912	0,51	0,251	0,038	0,068
	CTRL+OLZ	1	0,965	0,475	0,145	0,015	0,018
	CTRL+FA	1	0,974	0,648	0,365	0,033	0,105
	CTRL+OLZ+FA	1	0,85	0,378	0,163	0,011	0,016
	PD	0	1	1	1	0,998	1
	PD+OLZ	0	0,33	0,162	0,608	0,845	0,86
	PD+OLZ+FA	0,016	0,81	0,718	0,928	0,963	0,958
PD+OLZ+FA	CTRL	0,002	0,107	0,01	0,01	0,001	0,002
	CTRL+OLZ	0,014	0,171	0,008	0,004	0	0
	CTRL+FA	0,009	0,19	0,018	0,018	0,001	0,004
	CTRL+OLZ+FA	0,006	0,073	0,005	0,005	0	0
	PD	0,497	0,628	0,747	0,903	1	0,994
	PD+OLZ	0,036	0,992	0,968	0,997	1	1
	PD+FA	0,016	0,81	0,718	0,928	0,963	0,958

4.3. Прираст телесне масе у у односу на групу

На графикону број 8 је приказан прираст телесне масе у свакој групи током истраживања.

Највећи прираст у телесној маси имале су групе које су третиране оланзапином.

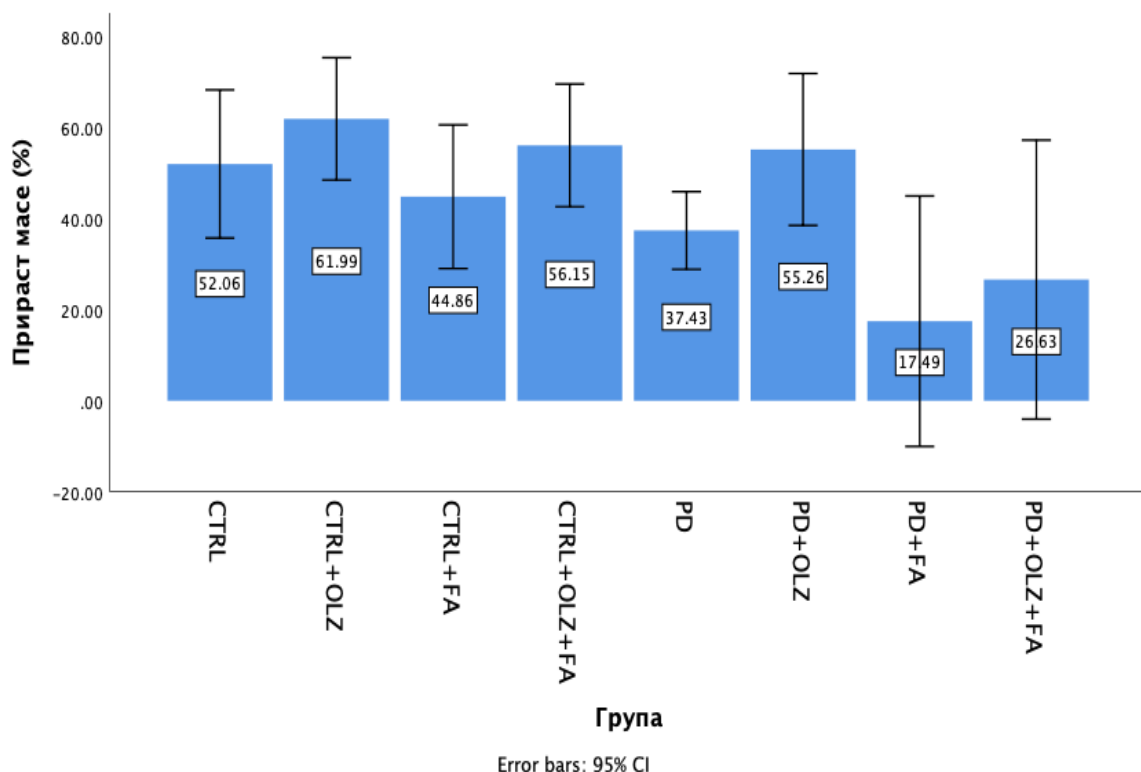
Најнижи прираст у телесној маси су имале групе које су биле на исхрани са протеинима без примене оланзапина.

Примена омега-3 масних киселина (EPA+DHA) такође је утицала на мањи прираст масе пацова након шест недеља третмана.

У односу на пацове који су били без фармаколошког третмана и на стандардној исхрани, пацови којима је администриран оланзапин свакодневно, су више него удвостручили своју телесну масу на крају третмана. Са друге стране, употреба хране обогаћене протеинима и есенцијалним масним киселинама је значајно онемогућила драстично увећање телесне масе током и након експерименталног периода.

Такође битно је напоменути да је прираст масе значајније присутна у другој половини експерименталног периода, тј. након треће недеље третмана (графикон 8).

Графикон број 8. Стопа прираста масе у процентима (%) након шест недеља третмана у свакој групи посебно.



4.4. Утицај различитих третмана на промену вредности гликемије, ензима јетре и липопротеина у серуму пацова

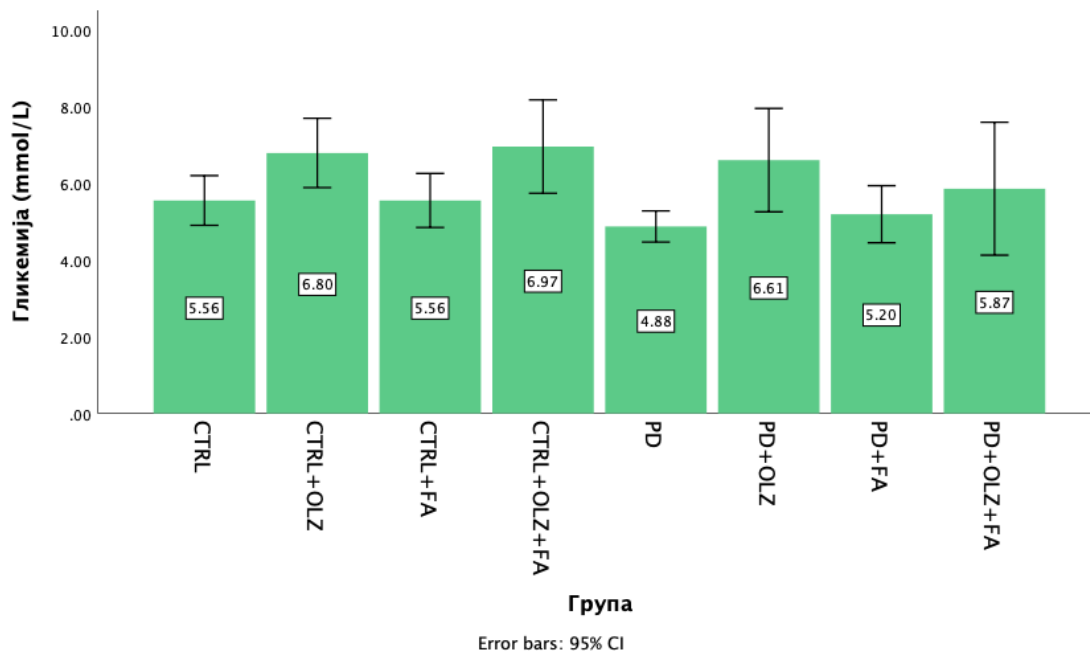
4.4.1. Гликемија

Статистичком анализом није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији глукозе поређењем група.

Међутим, **постоје дискретна повећања** и појава хипергликемије у групама третиране оланзапином у трајању од 6 недеља, и то у групама (CTRL+OLZ), (CTRL+OLZ+FA) и (PD+OLZ) групама.

У осталим групама концентрација глукозе се креће у физиолошким оквирима (Графикон број 9, Табела 13 и 14).

Графикон број 9. Концентрација глукозе у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)

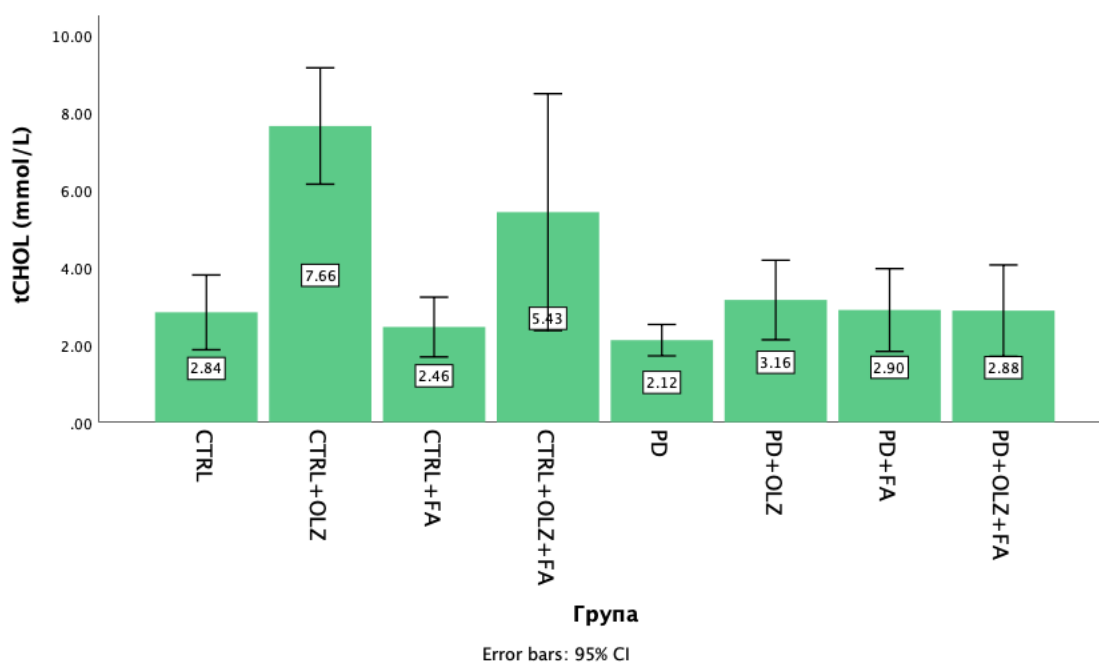


4.4.2. Укупни холестерол

Концентрација укупног холестерола у серуму пацова је прилично различита у свим групама и креће се од веома ниских па до веома високих вредности.

Статистички значајно више вредности холестерола су утврђене у контролним групама које су третиране оланзапином CTRL+OLZ и CTRL+OLZ+FA у односу на остале групе (Графикон број 10, табела 13 и 14).

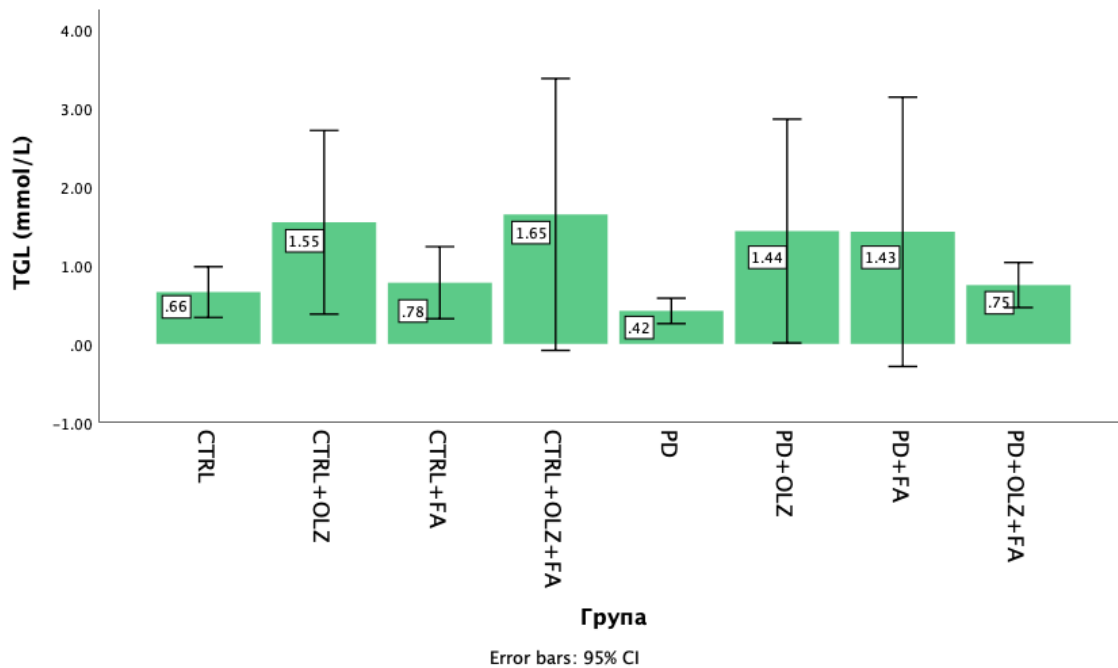
Графикон број 10. Концентрација укупног холестерола у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.4.3. Триглицериди

Статистичком анализом није утврђена значајна разлика у концентрацији триглицерида између контролних и експерименталних група (Графикон број 11, табеле 13 и 14).

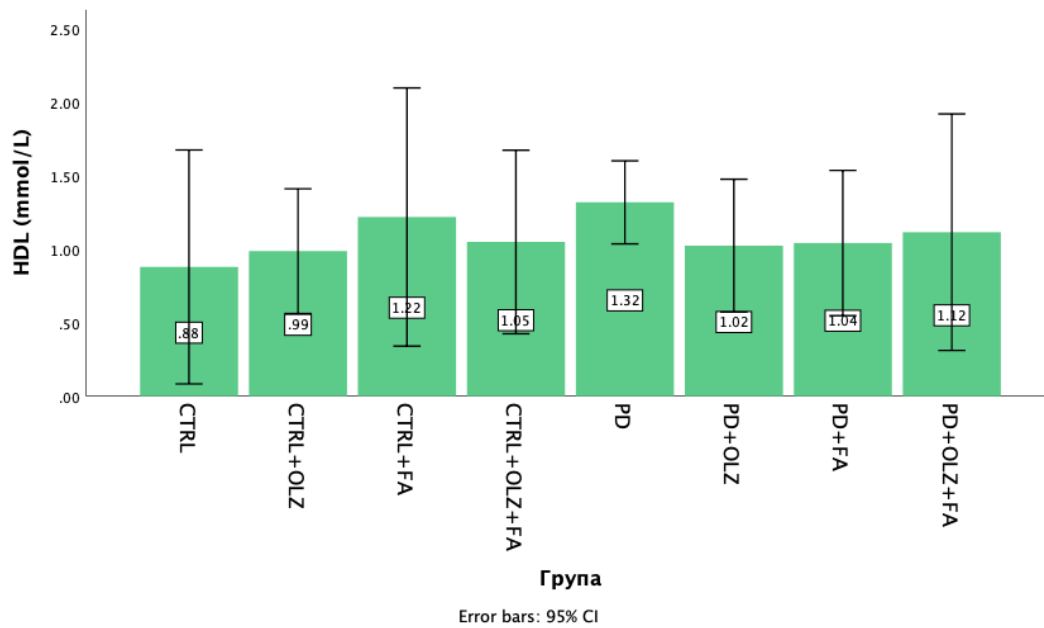
Графикон број 11. Концентрација триглицерида у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.4.4. Липопротеини високе густине

Статистичком анализом није утврђена значајна разлика у концентрацији липопротеина високе густине (HDL) између контролних и експерименталних група, мада је евидентан тренд у групама пацова који су користили протеине у исхрани (графикон 12, табеле 13 и 14).

Графикон број 12. Концентрација HDL-а у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)

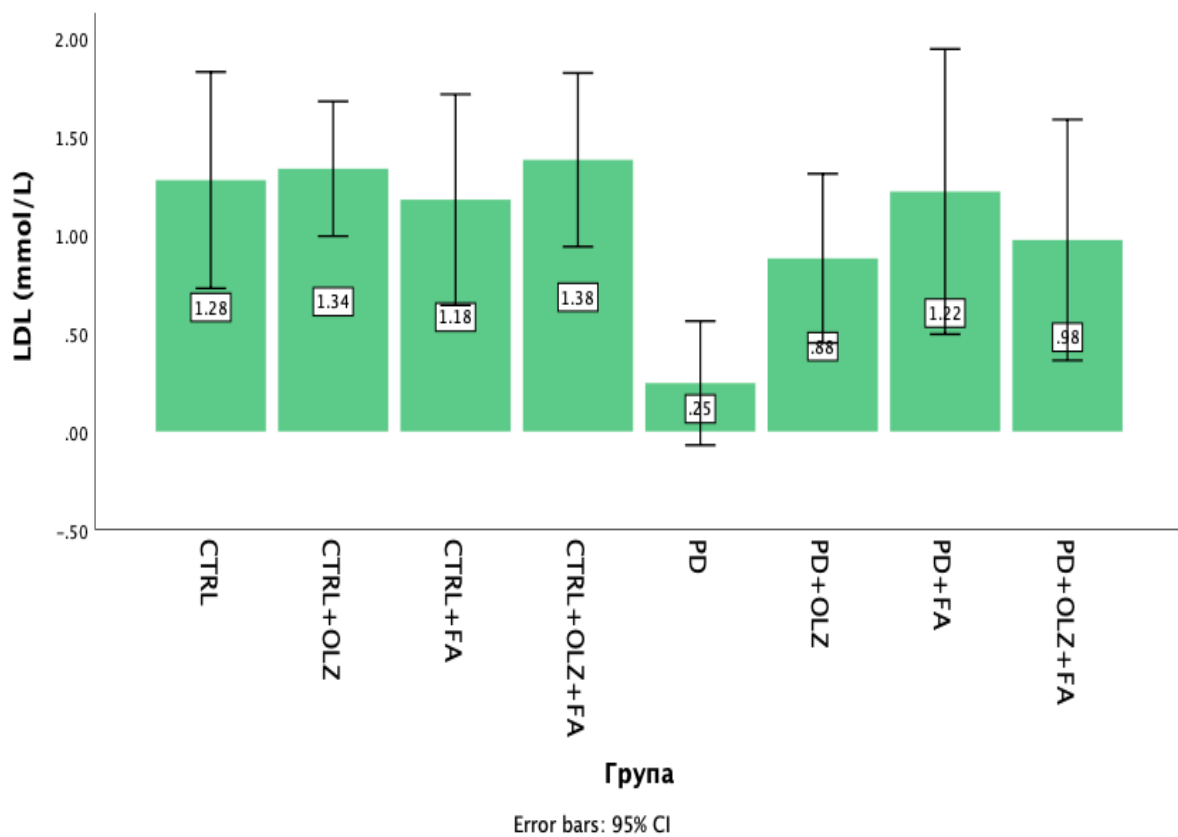


4.4.5. Липопротеини мале густине

Статистичком анализом утврђена значајно нижа концентрација липопротеина мале густине (LDL) у протеинској групи у односу на већину осталих група, укључујући и контролну групу.

Видљиви су трендови нижих вредности у серуму код свих група које су имале додатак протеина у исхрани, осим групе која је користила притеине заједно са омега масним киселинама (Графикон 13, табеле 13 и 14).

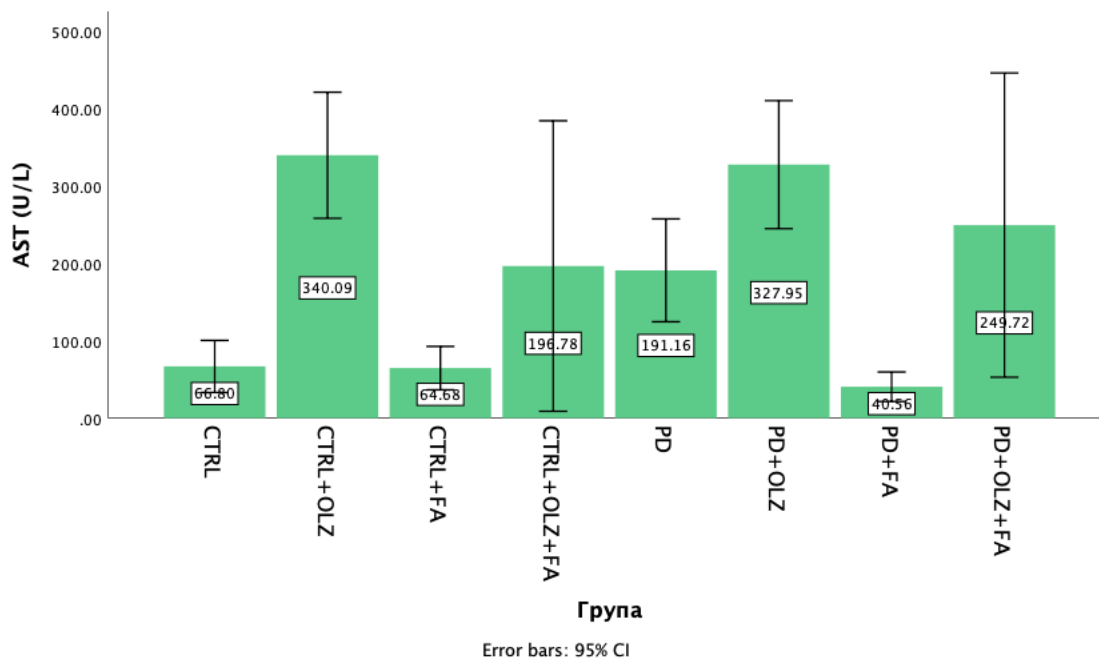
Графикон број 13. Концентрација LDL-а у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.4.6. Аспартат аминотрансфераза

Статистичком анализом утврђена је значајна промена вредности ензима АСТ-а (*Aspartat amino-transferaza (AST)*) међу групама. Такође, у свим групама су добијене вредности које су изнад вредности које се дефинишу нормалним (0-35 ИЈ/л). Групе које нису биле фармаколошки третиране су имале повећање вредности изнад референтних у мањем обиму, али је у овим резултатима значајно то, што су добијене вредности ензима у фармаколошки третираним групама са оланзапином имале драстично велика увећања овог ензима, и то највише у групи (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ), као и у групи (PD+OLZ+FA). Најниже вредности ензима су забележене у групи (PD+FA), које су биле ниже и у односу на контролну групу и контролну групу са омега 3 масним киселинама (Графикон 15, табеле 13 и 14). Вредност овог ензима је значајно била повишена и у групи која је у исхрани користила протеине (PD).

Графикон број 15. Активност АСТ-а у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност ± средња стандардна грешка)

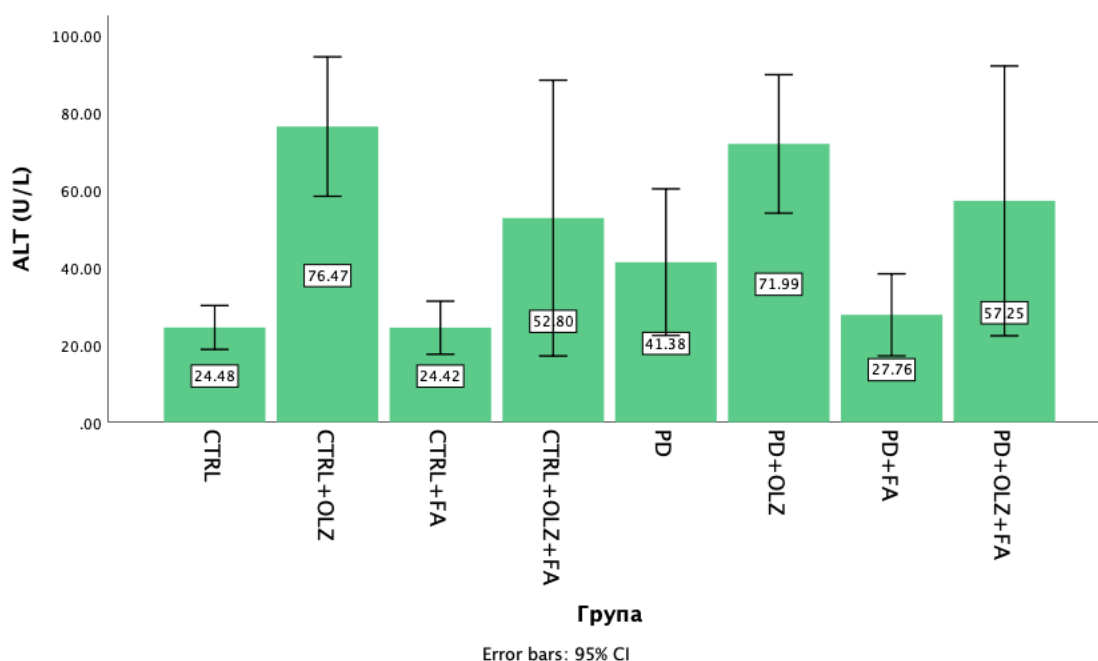


4.4.7. Аланин аминотрансфераза

Активност АЛТ-а ензима (*Alanin amino-transferaza (ALT)*) је била значајно промењена. У односу на референтне (0-45 ИЈ/л), нормалне вредности овог ензима су биле повећане у свим групама (контролним и експерименталним) које су биле фармаколошки третиране оланзапином, док су вредности ензима у контролним и експерименталним групама без фармаколошког третмана биле у границама нормале. Најнижу вредност ензима је имала у контролној (CTRL) групи и слично и у (CTRL+FA) групи. Вредности ензима између (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ) група су биле сличне и обе значајно веће од нормалних вредности. Слично је и у групама (CTRL+OLZ+FA) и (PD+OLZ+FA). Добијене вредности су сличне, иако су ниже у односу на групе без омега масних киселина.

Статистичком анализом утврђена је значајна разлика промена вредности АЛТ-а у односу на групе са фармаколошким третманом и то (CTRL) групе у односу на (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ) групу, (CTRL+OLZ) групе у односу на (CTRL), (CTRL+FA) и (PD+FA) групе. (Графикон 15, табеле 13 и 14).

Графикон број 15. Активност АЛТ-а у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност ± средња стандардна грешка)

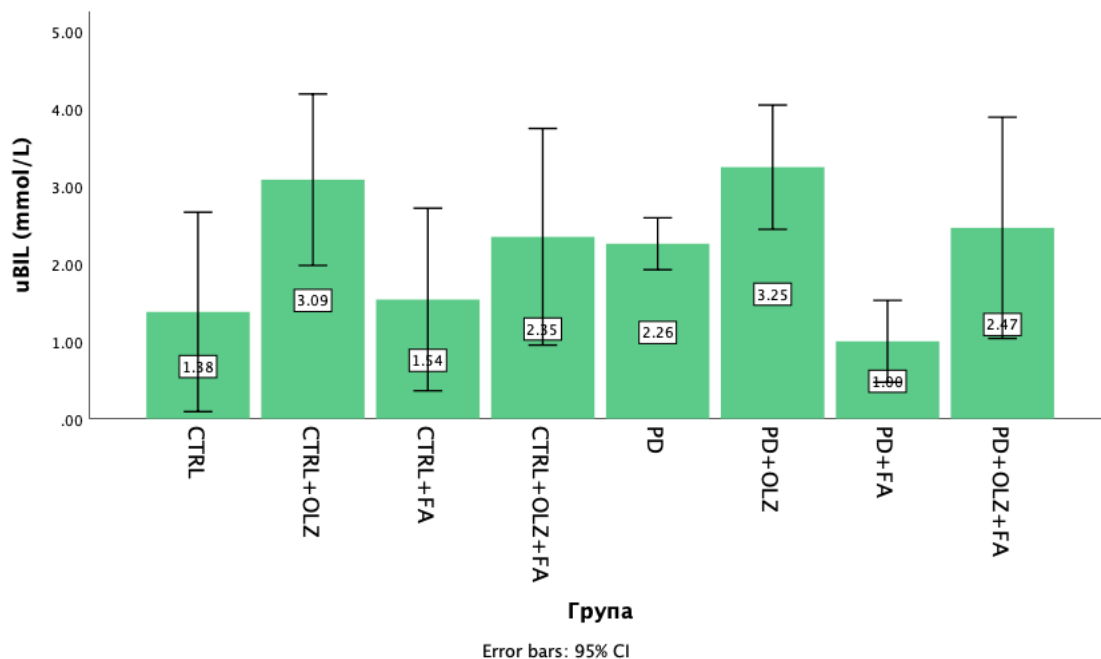


4.4.8. Укупни билирубин

Концентрација укупног билирубина је била статистички значајно различита између (PD+OLZ) групе и (CTRL+OLZ) и (PD+FA), која уједно има и најниже вредности овог ензима у односу на све праћене групе.

Приметно је да примена омега масних киселина није утицала на промене концентрације укупног билирубина, уз евидентно најниже вредности билирубина у експерименталној групи која је тертирана протеинима и масним киселинама (PD+FA) (Графикон 16, Табеле 13 и 14). Такође, евидентно је да добијене вредности нису ван оквира референтних нормалних вредности карактеристичних за овај параметар.

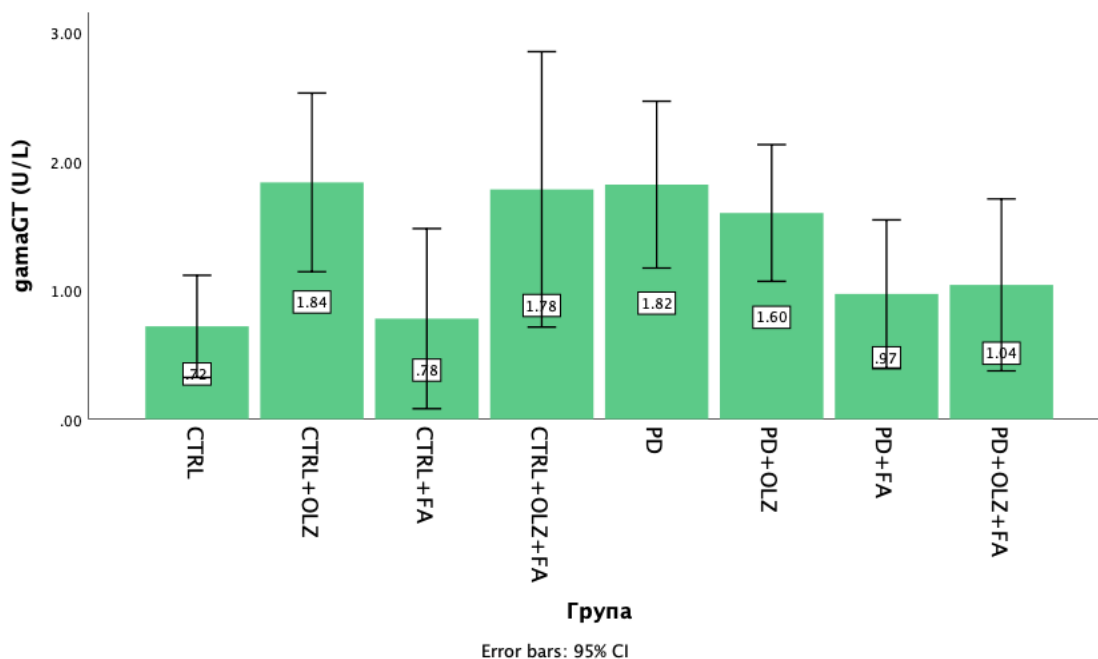
Графикон број 16. Концентрација укупног билирубина у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.4.9. Гама-глутамил трансфераза

Вредности ензима гама-глутамил трансферазе (*gama-glutamyl-transferaza -GGT*) није била статистички значајно повећана у свим упоредивим групама, иако су реалне вредности у групама са оланзапином највеће, уз чињеницу да је комбинована примена (PD+OLZ+FA) довела до реално најнижих вредности у односу на остале групе са оланзапином (Графикон 17, табеле 13 и 14). Са друге стране, ни једна група није искочила ван референтних вредности за овај ензим.

Графикон број 17. Активност *gama GT* у серуму пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.4.10. Анализа промена биохемијских маркера у односу са фармаколошки третман и дијетални режим

Табела 15 и табела 15 а и б показују статистичке значајности унутра сваке групе посебно за сваку биохемијску анализу.

Статистички значајне промене и разлике приметне су код свих биохемијских маркера изузев триглицерида и липорптитеина ‘’високе’’ густине (Табела 15).

Табела број 15. Поређење средњих вредности биохемијских маркера мерених у серуму пацова након експерименталног периода (АНОВА анализа, „Tukey post hoc“ тестом. Статистички праг је утврђен на 0,05.

АНОВА табела		Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Gly	Између група	26,51	7	3,79	2,97	0,013
	Унутар групе	53,57	42	1,28		
tCHOL	Између група	176,74	7	25,25	11,189	0
	Унутар групе	94,77	42	2,26		
TGL	Између група	9,49	7	1,36	0,817	0,578
	Унутар групе	69,69	42	1,66		
HDL	Између група	0,70	7	0,10	0,295	0,952
	Унутар групе	14,17	42	0,34		
LDL	Између група	5,33	7	0,76	2,875	0,015
	Унутар групе	11,13	42	0,27		
AST	Између група	661.345,13	7	94.477,88	8,085	0
	Унутар групе	490.803,20	42	11.685,79		
ALT	Између група	20.199,40	7	2.885,63	6,145	0
	Унутар групе	19.722,38	42	469,58		
uBIL	Између група	31,20	7	4,46	3,975	0,002
	Унутар групе	47,09	42	1,12		
gamaGT	Између група	9,81	7	1,40	2,954	0,013
	Унутар групе	19,93	42	0,48		

Табела 15. а Међусобно поређење средњих вредности биомаркера јетрине функције, гликемије и липопротеина у серуму у односу на контролну групу. Статистичка значајност утврђена је АНОВА анализом и „Tukey Post Hoc“ тестом. Статистички праг утврђен је на 0,05.

Група		Gly	tCHOL	TGL	HDL	LDL	AST	ALT	uBIL	Gama GT
CTRL	CTRL+OLZ	0,542	0	0,924	1	1	0,002	0,003	0,115	0,111
	CTRL+FA	1	1	1	0,982	1	1	1	1	1
	CTRL+OLZ+FA	0,458	0,11	0,905	1	1	0,503	0,397	0,796	0,204
	PD	0,979	0,994	1	0,928	0,052	0,611	0,917	0,888	0,213
	PD+OLZ	0,727	1	0,962	1	0,87	0,003	0,009	0,062	0,35
	PD+FA	0,999	1	0,969	1	1	1	1	0,999	0,998
CTRL+OLZ	PD+OLZ+FA	1	1	1	0,997	0,975	0,124	0,225	0,69	0,994
	CTRL	0,542	0	0,924	1	1	0,002	0,003	0,115	0,111
	CTRL+FA	0,542	0	0,964	0,996	0,999	0,001	0,003	0,198	0,153
	CTRL+OLZ+FA	1	0,137	1	1	1	0,243	0,479	0,898	1
	PD	0,082	0	0,782	0,971	0,012	0,26	0,112	0,865	1
	PD+OLZ	1	0	1	1	0,641	1	1	1	0,997
CTRL+FA	PD+FA	0,14	0	1	1	1	0	0,002	0,01	0,254
	PD+OLZ+FA	0,787	0	0,941	1	0,892	0,777	0,722	0,956	0,408
	CTRL	1	1	1	0,982	1	1	1	1	1
	CTRL+OLZ	0,542	0	0,964	0,996	0,999	0,001	0,003	0,198	0,153
	CTRL+OLZ+FA	0,458	0,041	0,95	1	0,998	0,482	0,394	0,907	0,265
	PD	0,979	1	1	1	0,105	0,591	0,916	0,959	0,274
CTRL+OLZ+FA	PD+OLZ	0,727	0,991	0,985	0,999	0,969	0,003	0,009	0,114	0,439
	PD+FA	0,999	1	0,988	0,999	1	1	1	0,987	1
	PD+OLZ+FA	1	1	1	1	0,998	0,116	0,223	0,831	0,998
	CTRL	0,458	0,11	0,905	1	1	0,503	0,397	0,796	0,204
	CTRL+OLZ	1	0,137	1	1	1	0,243	0,479	0,898	1
	CTRL+FA	0,458	0,041	0,95	1	0,998	0,482	0,394	0,907	0,265
CTRL+OLZ+FA	PD	0,069	0,015	0,761	0,994	0,015	1	0,987	1	1
	PD+OLZ	0,999	0,122	1	1	0,62	0,346	0,724	0,763	1
	PD+FA	0,119	0,073	1	1	0,999	0,185	0,445	0,322	0,42
	PD+OLZ+FA	0,695	0,09	0,924	1	0,864	0,989	1	1	0,582

Табела 15. 6 Међусобно поређење средњих вредности биомаркера јетрине функције, гликемије и липопротеина у серуму у односу на експерименталну групу. Статистичка значајност утврђена је АНОВА анализом и „Tukey Post Hoc“ тестом. Статистички праг утврђен је на 0,05.

Група		Gly	tCHOL	TGL	HDL	LDL	AST	ALT	uBIL	Gama GT
PD	CTRL	0,979	0,994	1	0,928	0,052	0,611	0,917	0,888	0,213
	CTRL+OLZ	0,082	0	0,782	0,971	0,012	0,26	0,112	0,865	1
	CTRL+FA	0,979	1	1	1	0,105	0,591	0,916	0,959	0,274
	CTRL+OLZ+FA	0,069	0,015	0,761	0,994	0,015	1	0,987	1	1
	PD+OLZ	0,154	0,923	0,859	0,985	0,393	0,361	0,233	0,724	0,999
	PD+FA	1	0,986	0,879	0,991	0,044	0,278	0,959	0,474	0,429
	PD+OLZ+FA	0,832	0,99	1	0,999	0,298	0,985	0,925	1	0,581
PD+OLZ	CTRL	0,727	1	0,962	1	0,87	0,003	0,009	0,062	0,35
	CTRL+OLZ	1	0	1	1	0,641	1	1	1	0,997
	CTRL+FA	0,727	0,991	0,985	0,999	0,969	0,003	0,009	0,114	0,439
	CTRL+OLZ+FA	0,999	0,122	1	1	0,62	0,346	0,724	0,763	1
	PD	0,154	0,923	0,859	0,985	0,393	0,361	0,233	0,724	0,999
	PD+FA	0,26	1	1	1	0,902	0	0,007	0,004	0,647
	PD+OLZ+FA	0,92	1	0,974	1	1	0,878	0,908	0,866	0,803
PD+FA	CTRL	0,999	1	0,969	1	1	1	1	0,999	0,998
	CTRL+OLZ	0,14	0	1	1	1	0	0,002	0,01	0,254
	CTRL+FA	0,999	1	0,988	0,999	1	1	1	0,987	1
	CTRL+OLZ+FA	0,119	0,073	1	1	0,999	0,185	0,445	0,322	0,42
	PD	1	0,986	0,879	0,991	0,044	0,278	0,959	0,474	0,429
	PD+OLZ	0,26	1	1	1	0,902	0	0,007	0,004	0,647
	PD+OLZ+FA	0,961	1	0,979	1	0,988	0,024	0,247	0,228	1
PD+OLZ+FA	CTRL	1	1	1	0,997	0,975	0,124	0,225	0,69	0,994
	CTRL+OLZ	0,787	0	0,941	1	0,892	0,777	0,722	0,956	0,408
	CTRL+FA	1	1	1	1	0,998	0,116	0,223	0,831	0,998
	CTRL+OLZ+FA	0,695	0,09	0,924	1	0,864	0,989	1	1	0,582
	PD	0,832	0,99	1	0,999	0,298	0,985	0,925	1	0,581
	PD+OLZ	0,92	1	0,974	1	1	0,878	0,908	0,866	0,803
	PD+FA	0,961	1	0,979	1	0,988	0,024	0,247	0,228	1

4.5. Утицај различитих третмана на промену вредности про-оксидационих маркера у плазми пацова

4.5.1. Вредности супероксид анјон радикала

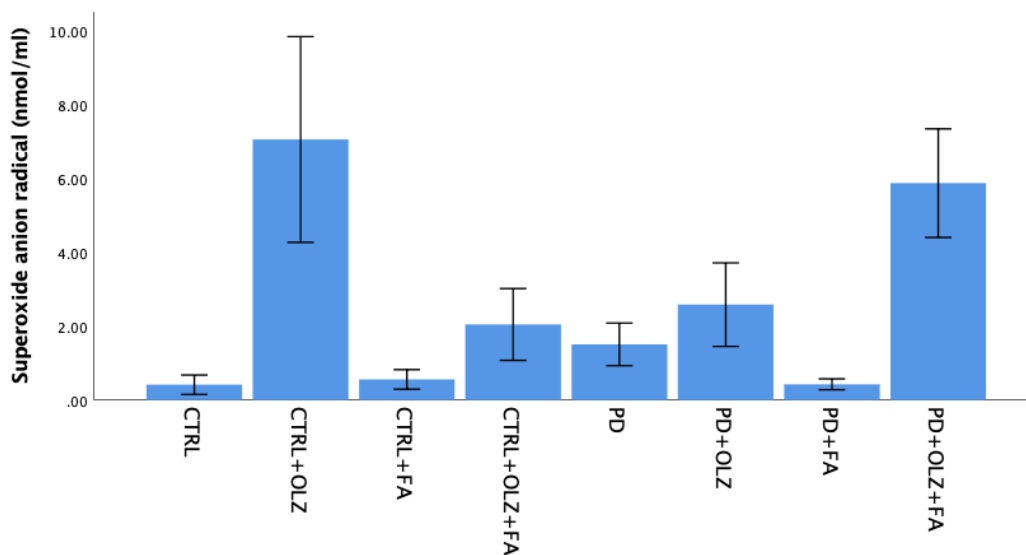
Вредности супероксид анјон радикала значајно су измењене у готово свим групама.

Најниже вредности овог маркера примећене су у групама са масним киселинама (CTRL+FA) и (PD+FA) групама. Највеће концентрације примећене у групама које су третиране са оланзапином – (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ+FA) у поређењу са другим групама (Графикон 18, табела 16).

Највећи раст се бележи у контролној групи са уобичајеном исхраном (CTRL+OLZ). Додавање исхране богате протеинима заједно са оланзапином (PD+OLZ), указује на значајан пад вредности овог слободног радикала у односу на контролну групу са оланзапином (CTRL+OLZ). Посебно је интересантан утицај омега масних киселина које су у групу са протеинском исхраном и оланзапином (PD+OLZ+FA) бележиле значајан раст вредности овог радикала.

Постојање разлике између контролне и протеинске групе које су биле третиране омега масним киселинама је евидентна и указује на утицај омега 3 масних киселина на раст овог радикала.

Графикон број 18. Концентрација супероксид анјон радикала у плазми пацова након експерименталног периода (средња вредност ± средња стандардна грешка)



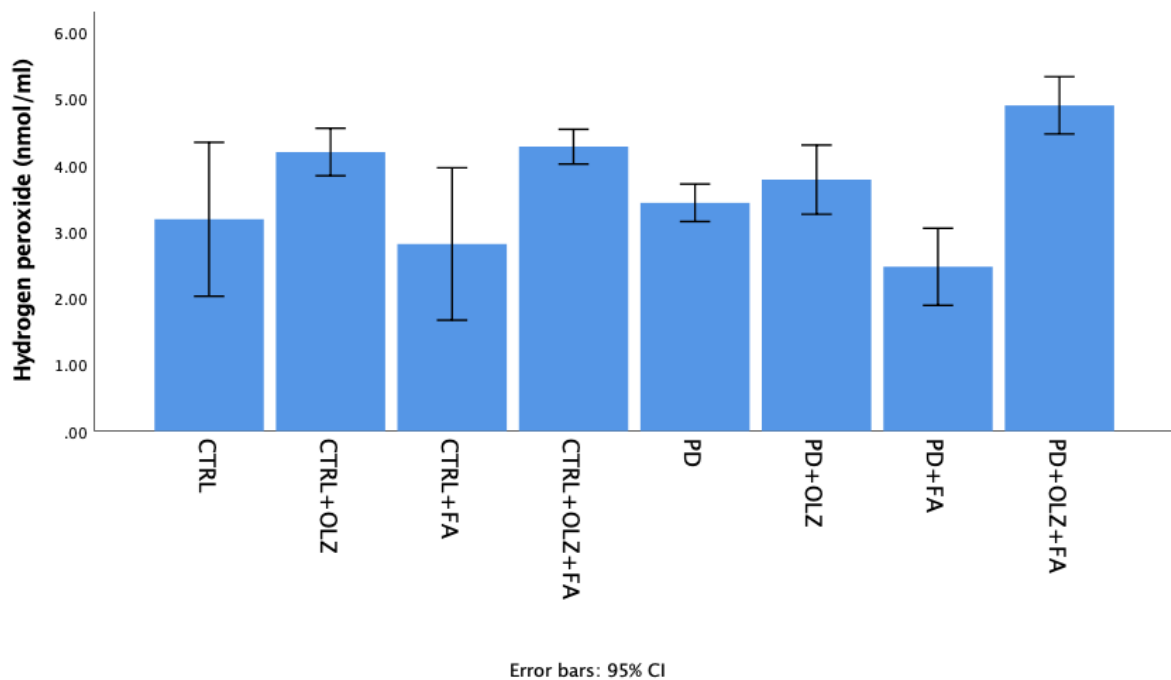
Error bars: 95% CI

4.5.2. Концентрација водоник пероксида

Графикон 19 показује да су концентрације водоник пероксида значајно повећане у свим групама пацова третираних оланзапином (CTRL+OLZ), (CTRL+OLZ+FA), (PD+OLZ), (PD+OLZ+FA).

Са друге стране, групе третиране масним киселинама, али без фармаколошког третмана, имају најнижи ниво водоник пероксида у поређењу са другим групама (Графикон 19, табела 16).

Графикон број 19. Концентрација водоник пероксида у плазми пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)

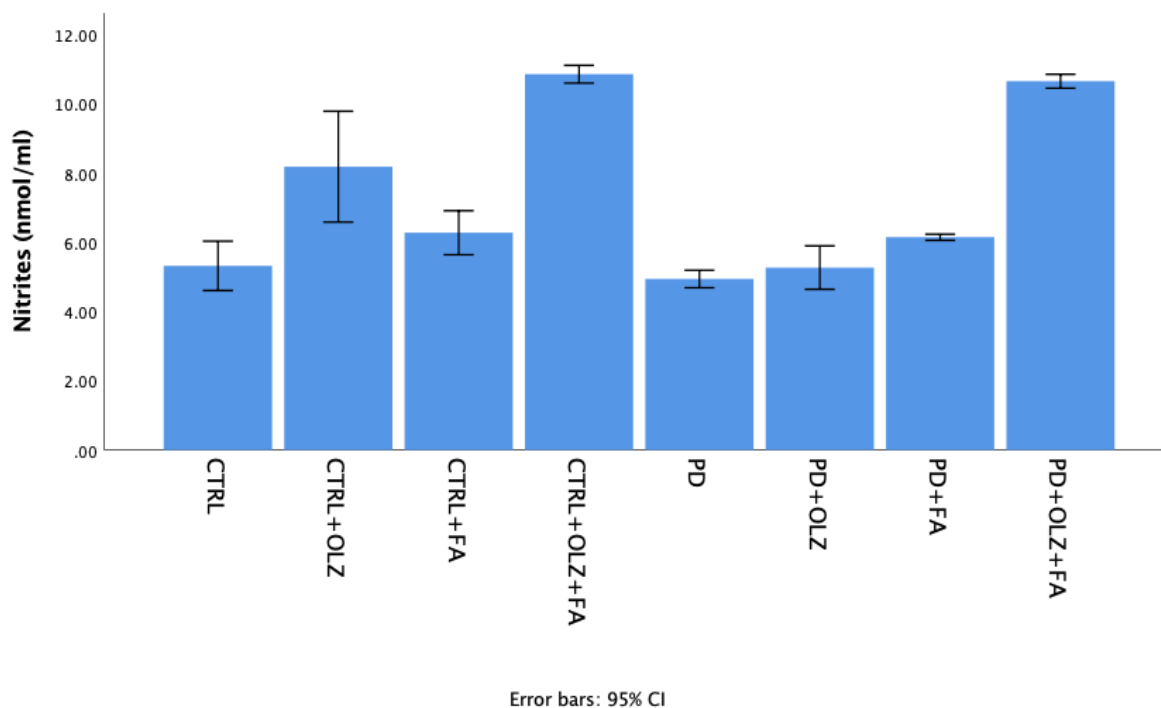


4.5.3. Биорасположивост азот монооксида

Биорасположивост азот монооксида је значајно промењена у контролним и експерименталним групама третираним оланзапином и масним киселинама (CTRL+OLZ+FA) и (PD+OLZ+FA) групама у поређењу са другим групама (Графикон 20, табела 16).

Евидентно је снижење вредности између контролне групе са оланзапином и протеинске групе са оланзапином. Примена оланзапина заједно са протеинском исхраном и омега масним киселинама је у обе групе (контролној и протеинској) довела да највећих повећања. Очигледно је да њихова заједничка примена има утицаја на раст овог радикала и да је боље да се исти примењују одвојено

Графикон број 20. Концентрација нитрита у плазми пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



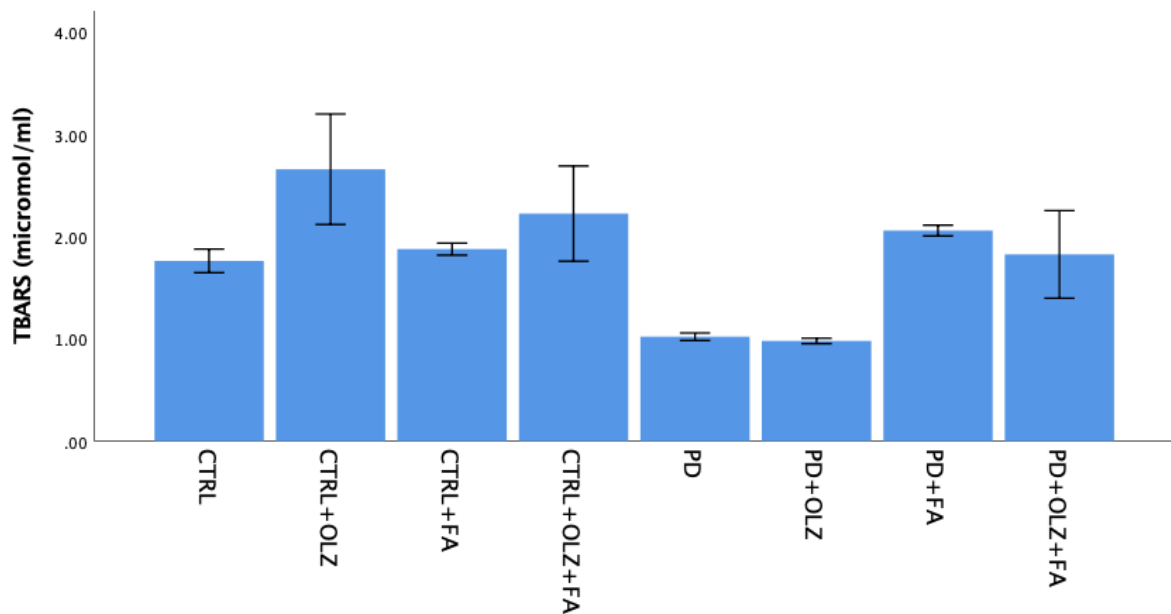
4.5.4. Концентрација индекса липидне пероксидације (TBARS)

Графикон 21 показује значајно повећане вредности концентрација ТБАРС-а (*thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS)), као једног од најзначајнијих параметара за процену индекса липидне пероксидације у групама које су третиране оланзапином (CTRL+OLZ), (CTRL+OLZ+FA) и (PD+OLZ+FA) као и у експерименталној групи (PD+FA) која је поред протеина била третирана и масним киселинама.

Пацови који су храњени протеинима, посебно у групама (PD), (PD+OLZ) имали су значајно смањен ниво ТБАРС-а у поређењу са (CTRL) контролним групама (пацовима храњеним стандардном храном за пацове - (Графикон 21, табела 16)

Додавање омега 3 масних киселина у протеинској схрани нису показале разлике у односу на контролну групу (CTRL+FA) у односу на (PD+FA), док је додавање протеина у групама са оланзапином довеле до пада вредности индекса липидне пероксидације. И овде се види да је ефекат појединачне примене протеинске исхране и омега масних киселина бољи од заједничке

Графикон број 21. Концентрација индекса липидне пероксидације мереног у форми ТБАРС-а у плазми пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



Error bars: 95% CI

4.6. Утицај различитих третмана на промену вредности активности антиоксидационих ензима у хемолизату крви пацова

4.6.1. Активност ензима супероксид дисмутазе

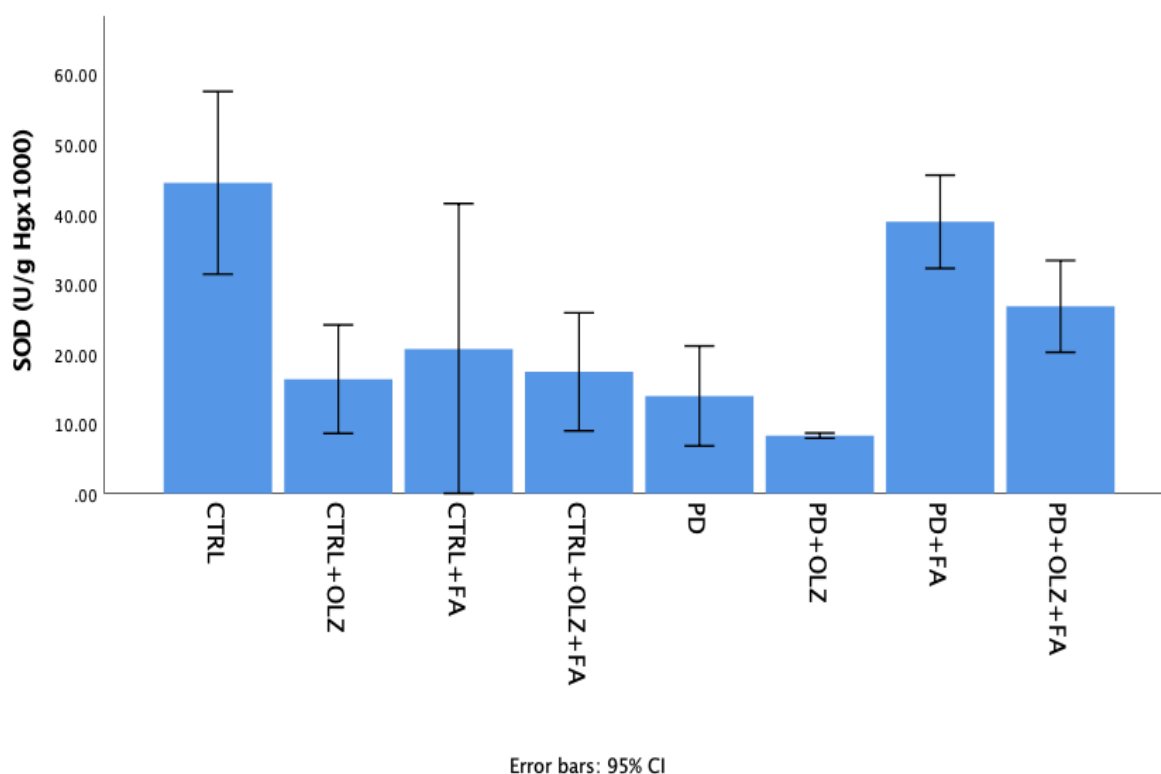
Активност супероксид дисмутазе значајно је смањена после третмана оланзапином и повећана након додавања у исхрани омега 3 масних киселина.

У поређењу са (CTRL) контролном групом, вредности СОД ензима (супероксид дисмутаза) су значајно смањени у контролним групама третираним оланзапином и омега масним киселинама (CTRL+OLZ), (CTRL+OLZ+FA) и (CTRL+FA).

У поређењу са експерименталном (PD) групом, овај ензим је смањен у (PD+OLZ) групи, док је у групи са омега масним киселинама (PD+FA) био повећан (Графикон 22, табела 16).

Видљив је пад вредности ензима у протеинској (PD) групи и раст у протеинској групи заједно са омега 3 масним киселинама (PD+FA), указује да примена самосталног протеина као додатка исхрани боље утиче на смањење вредности овог ензима у односу на примену заједно са омега масним киселинама.

Графикон број 22. Активност супероксид дисмутазе у хемолизату пацова након експерименталног периода (средња вредност ± средња стандардна грешка)



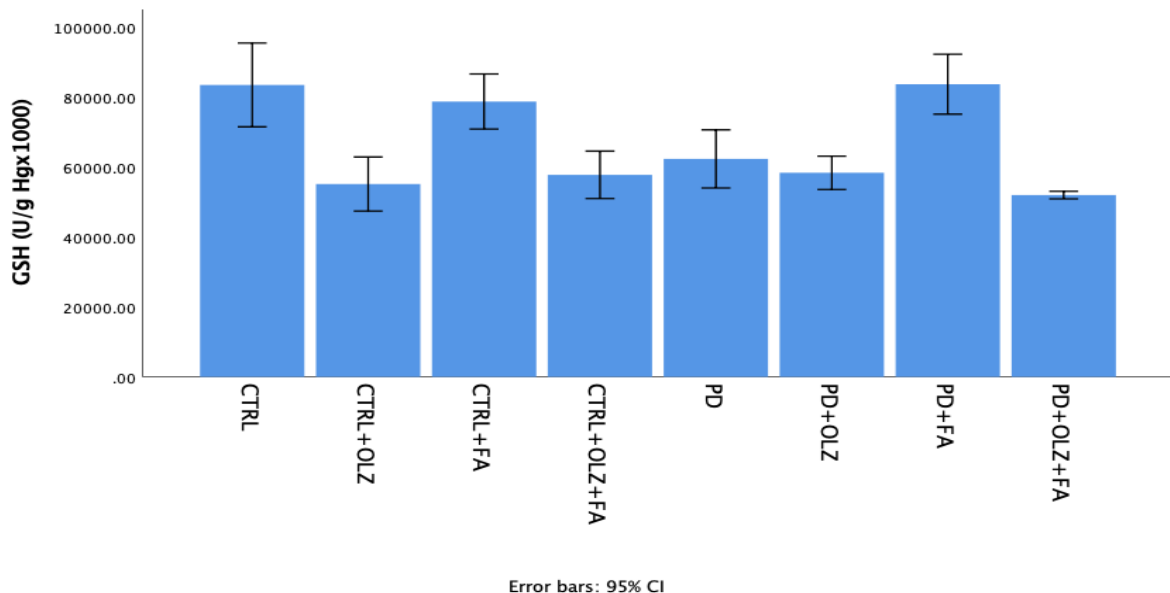
4.6.2. Активност редукованог глутатиона

Вредности GSH - редукованог глутатиона значајно је измењена у контролним и експерименталним групама, код којих су додаване омега масне киселине (CTRL+FA) и (PD+FA) групама у поређењу са другим групама, осим (CTRL) контролне групе.

У поређењу са (CTRL) групом, третман оланзапином изазвао је смањење овог маркера у свим групама где се примењивао, које је евидентно најниже у односу на остале вредности ензима евидентиране у контролној групи (CTRL+FA) и (PD+OLZ+FA) (Графикон 23, табела 16).

Додавање протеина у исхрани групама са фармаколошким третманом није утицало на промене вредности ензима у односу на контролну, али је евидентно постијнае утицаја на раст ензима од стране омега 3 масних киселина.

Графикон број 23. Активност редукованог глутатиона у хемолизату пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)

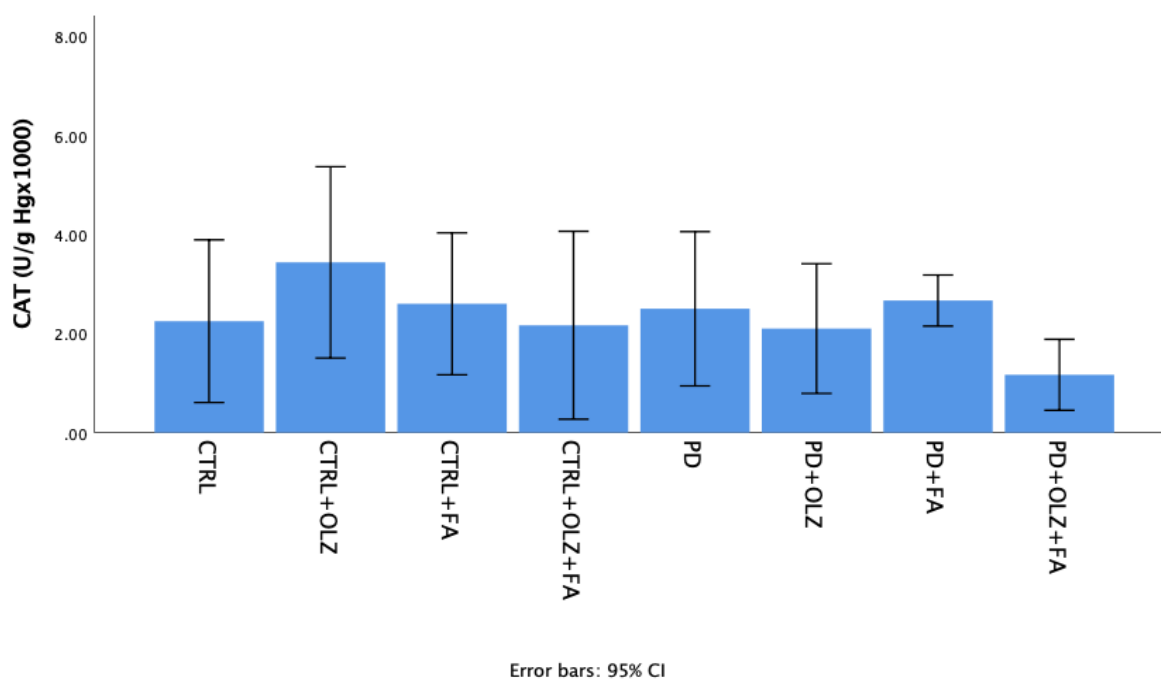


4.6.3. Активност ензима каталазе

Активност ензима CAT - каталазе значајно је измењена само у експерименталној групи третираној оланзапином и омега масним киселинама (PD+OLA+FA) групи, што се и види посматрајући те резултате у односу на вредности ензима у контролној – (CTRL+OLZ) групи.

Активност каталазе није значајно измењена у другим групама (Графикон 24, табела 16).

Графикон број 24. Активност каталазе у хемолизату пацова након експерименталног периода (средња вредност \pm средња стандардна грешка)



4.6.4. Статистички значајне промене вредности редокс маркера у плазми пацова услед различитих третмана

У табели број 16 приказане су сумарно статистичке значајности за сваки параметера од интереса, добијене поређењем група.

Табела 16. Статистичке значајности добијене поређењем група за сваки параметар од интереса (АНОВА, „Tukey post hoc“ тест)

Група		O ₂ ⁻	H ₂ O ₂	NO ₂ ⁻	TBARS	SOD	GSH	CAT
CTRL vs.	CTRL+OLZ	0.000	0.096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.677
	CTRL+FA	1.000	0.967	0.383	0.999	0.003	0.971	0.999
	CTRL+OLZ+FA	0.466	0.056	0.000	0.225	0.000	0.000	1.000
	PD	0.847	0.995	0.982	0.006	0.000	0.001	1.000
	PD+OLZ	0.124	0.643	1.000	0.002	0.000	0.000	1.000
	PD+FA	1.000	0.419	0.483	0.717	0.980	1.000	0.998
	PD+OLZ+FA	0.000	0.000	0.000	1.000	0.045	0.000	0.818
CTRL+OLZ vs.	CTRL	0.000	0.096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.677
	CTRL+FA	0.000	0.003	0.000	0.001	0.989	0.000	0.858
	CTRL+OLZ+FA	0.000	1.000	0.000	0.177	1.000	0.998	0.602
	PD	0.000	0.203	0.000	0.000	0.999	0.600	0.818
	PD+OLZ	0.000	0.856	0.000	0.000	0.706	0.991	0.383
	PD+FA	0.000	0.000	0.000	0.011	0.004	0.000	0.883
	PD+OLZ+FA	0.714	0.339	0.000	0.000	0.405	0.993	0.049
CTRL+FA vs.	CTRL	1.000	0.967	0.383	0.999	0.003	0.971	0.999
	CTRL+OLZ	0.000	0.003	0.000	0.001	0.989	0.000	0.858
	CTRL+OLZ+FA	0.501	0.001	0.000	0.493	0.998	0.000	0.997
	PD	0.889	0.514	0.024	0.000	0.866	0.006	1.000
	PD+OLZ	0.124	0.067	0.174	0.000	0.255	0.000	0.986
	PD+FA	1.000	0.955	1.000	0.957	0.047	0.927	1.000
	PD+OLZ+FA	0.000	0.000	0.000	1.000	0.926	0.000	0.403
CTRL+OLZ+FA vs.	CTRL	0.466	0.056	0.000	0.225	0.000	0.000	1.000
	CTRL+OLZ	0.000	1.000	0.000	0.177	1.000	0.998	0.602
	CTRL+FA	0.501	0.001	0.000	0.493	0.998	0.000	0.997
	PD	0.993	0.117	0.000	0.000	0.995	0.937	1.000
	PD+OLZ	0.993	0.711	0.000	0.000	0.570	1.000	1.000
	PD+FA	0.290	0.000	0.000	0.965	0.007	0.000	0.993
	PD+OLZ+FA	0.000	0.493	0.999	0.265	0.538	0.840	0.869

4.7. Патохистолошка анализа ткива јетре пацова у различитим режимима исхране са или без фармаколошког третмана

Резултати патохистолошке анализе приказани су табеларно и графички у односу на групе. Приказ хистолошких анализа су приказани ; у контролној (CTRL) групи, као и свим подгрумама контролне групе (CTRL+OLZ) групи (стандардна храна плус оланзапин), (CTRL+FA) групи (стандардна храна плус омега масне киселине) и (CTRL+OLZ+FA) групи (стандардна храна плус омега масне киселине плус оланзапин)

За сваку групу праћене су три форме могућих масних промена у ткиву јетре:

1. Појава укупних масних промена
2. Појава балониране дегенерације ћелија
3. Појава лобуларне инфилтрације.

Присуство укупних масних промена (CTRL) група

У табели број 17 приказано је присуство детектованих масних промена у контролној (CTRL) групи (контролна група пацова храњена стандардном храном без фармаколошког третмана).

Промене су манифестне највише у групи у којој су промене видљиве у мање од 5% узорака и овакав налаз се може посматрати уобичајним, односно нормалним.

Табела број 17. Присуство масне промене – (CTRL) група

Масна промена	0 (5% лобулуса)	1 (5-33% лобулуса)	2 (33-66% лобулуса)	3 (>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.	x			
2.	x			
3.	x			
4.	x			
5.		x		
6.	x			

Присуство балониране дегенерације (CTRL) група

У табели број 18 приказано је присуство детектованих масних промена у форми балониране дегенерације у контролној (CTRL) групи (контролна група пацова храњена стандардном храном без фармаколошког третмана).

Промене су дефинисане као дискретне и није било детектованих изражених промена

Табела број 18 . Присуство балонирајуће дегерације – (CTRL) група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.	x	
2.	x	
3.	x	
4.	x	
5.	x	
6.	x	

Присуство лобуларне инфламације – (CTRL) група

У табели број 19 приказано је присуство детектованих масних промена у форми лобуларне инфламације у контролној (CTRL) групи (контролна група пацова храњена стандардном храном без фармаколошког третмана).

Промене су видљиве доминантно на нивоу 1 (1-2 видљива фокуса и у два случајева на нивоу 2 (2-4 фокуса)

Табела број 19. Присуство лобуларне инфламације – (CTRL) група

<u>Лобуларна инфламација</u>	1 (1-2 фокуса)	2 (2-4 фокуса)	3 (> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.	x		
2.		x	
3.	x		
4.	x		
5.		x	
6.	x		

Детектоване масне промене у контролној (CTRL+OLZ) групи

(CTRL+OLZ) група - контролна група пацова храњена стандардном храном којој се примењује оланзапин у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално.

Ова група је показивала значајне разлике у појави детектабилних масних појава на ткиву јетре.

Масне промене - (CTRL+OLZ) група

Присуство укупних масних параметара је приказано у табели број 20.

Највише промена видљиво је у групи где је обухваћено од 5-33% лобулуса, а у нешто мањим процентима је ова појава била видљива и у другим групама праћења сходно критеријумима.

Евидентно је да додавање оланзапина доводи до појаве већег степена захваћености лобулуса са масним променама у односу на контролну групу у којој је ова промена код свих експерименталних животиња била доминантно у групи где је захваћеност лобулуса мања д 5%.

Табела број 20. Присуство масних промена у контролној (CTRL+OLZ) групи

<u>Масна промена</u>	0 (5% лобулуса)	1 (5-33% лобулуса)	2 (33-66% лобулуса)	3 (>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.		x		
2.		x		
3.				x
4.				x
5.		x		
6.			x	

Присуство балониране дегенерације – (CTRL+OLZ) група

Присуство масних параметара по моделу балонирајуће дегенерације је била видно изражена код свих експерименталних животиња које су биле третиране оланзапином у односу на контролну групу без примене оланзапина.

Оланзапин име евидентно јасан ефекат у развоју ове промене на ткиву јетре.

Табела број 21. Присуство балонирајуће дегенерације у контролној (CTRL+OLZ) групи

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.		x
2.		x
3.		x
4.		x
5.		x
6.		x

Присуство лобуларне инфламације – (CTRL+OLZ) групи

Присуство масних параметара по моделу лобуларне инфилтрације је била видно изражена код свих експерименталних животиња у групи 2 и 3 (2 до 4 и више од 4

фокуса) што јасно указује на деловање оланзапина на појаву оваквог налаза – табела број 22.

Оланзапин име евидентно јасан ефекат у развоју ове промене на ткиву јетре.

Табела број 22. Присуство лобуларне инфламације у контролној (CTRL+OLZ) групи

Лобуларна инфламација	1	2	3
	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.			x
2.			x
3.		x	
4.			x
5.		x	
6.			x

Детектоване масне промене у контролној групи која је поред стандардне хране користила и омега масних киселине – (CTRL+FA) групи

Контролна група пацова храњена је стандардном храном уз додатак омега-3-масних киселина (фиксна орална комбинација од 400 мг еикозапентаеноинске киселине (EPA) и 200 мг докозахексаеноинске киселине)

Масне промене – (CTRL+FA) група

Током хистолошке анализе ткива јетре није евидентирана ни у једном узорку присуство масних промена у проценту већем од распона 0-5% (табела број 23)

Табела број 23. Присуство масне промене- (CTRL+FA) група

Масна промена	0	1	2	3
	(5% лобулуса)	(5-33% лобулуса)	(33-66% лобулуса)	(>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.	x			
2.	x			
3.	x			
4.	x			
5.	x			
6.	x			

Балонирајуће дегенерација – (CTRL+FA) група

Током хистолошке анализе ткива јетре евидентирана је дискретно присуство балонирајуће дегенерације узоркованог ткива јетре (табела број 24), слично као и у контролној (CTRL) групи

Табела број 24. Присуство балонирајуће дегенерације- (CTRL+FA= група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.		
2.	x	
3.	x	
4.		
5.	x	
6.	x	

Лобуларна инфилтрација – (CTRL+FA) група

Током хистолошке анализе ткива јетре евидентирано је подељено присуство знакова лобуларне инфилтрације на нивоу лобуса.

Резултати се разликују у подносу на (CTRL) групу у којој није било знакова захваћености веће од 1-2 фокуса по анализи и приказани су у табели 25.

Табела број 25. Присуство лобуларне инфламације – (CTRL+FA) група

<u>Лобуларна инфламација</u>	1 (1-2 фокуса)	2 (2-4 фокуса)	3 (> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.	x		
2.	x		
3.	x		
4.		x	
5.		x	
6.		x	

Детектоване масне промене у контролној групи која је поред стандардне хране користила омеге масних киселине и биле третиране оланзапином – (CTRL+OLZ+FA) групи

(CTRL+OLZ+FA)-(контролна група пацова храњена стандардном храном уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинске киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинске киселине (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA) којој се примењује оланзапин у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално)

Масне промене – (CTRL+OLZ+FA) група

Примена оланзапина у контролној групи животиња које су биле на стандардној исхрани уз додатак омега масних киселина је показала повећање развоја појаве масних промена на ткиву јетер током хистолошјке анализе.

Евидентан је већи проценат захваћености лобулуса са масним променама у односу на (CTRL) групу која је била на стандардној храни, (CTRL+FA) групи где се поред стандардне хране додавале омега масне киселине.

Очигледно је да оланзапин има јасног потенцијала и утицаја на појаву масних промена у распону од 5 до 66%, што је очигледна разлика у односу на групе које нису примале оланзапин (табела број 26)

Табела број 26. Присуство масне промене- (CTRL+OLZ+FA) група

<u>Масна промена</u>	0	1	2	3
	(5% лобулуса)	(5-33% лобулуса)	(33-66% лобулуса)	(>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.		x		
2.		x		
3.		x		
4.			x	
5.		x		
6.			x	

Присуство балонирајуће дегенерације – (CTRL+OLZ+FA) група

Примена оланзапина у контролној групи животиња које су биле на стандардној исхрани уз додатак омега масних киселина је показала повећање развоја појаве масних промена по форми балониране дегенерације на ткиву јетре током хистолошке анализе. Сви анализирани узорци су имали изражено присуство ове појаве у ткиву јетре.

Евидентан је веће присуство балониране дегенерације у односу на (CTRL) групу која је била на стандардној храни, (CTRL+FA) групи где се поред стандардне хране додавале омега масне киселине.

Очигледно је да оланзапин има јасног потенцијала и утицаја на појаву балонирајуће дегенерације, без обзира на додавање у исхрани омега масних киселина (табела број 27)

Табела број 27. Присуство балонирајуће дегенерације- (CTRL+OLZ+FA) група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.		x
2.		x
3.		x
4.		x
5.		x
6.		x

Присуство лобуларне инфламације – (CTRL+OLZ+FA) групи

Примена оланзапина у контролној групи животиња које су биле на стандардној исхрани уз додатак омега масних киселина је показала повећање развоја појаве масних промена по форми балониране дегенерације на ткиву јетре током хистолошке анализе.

Сви анализирани узорци су имали изражено присуство ове појаве у ткиву јетре.

Евидентано је изражено присуство масне инфилтрације у односу на (CTRL) групу која је била на стандардној храни, (CTRL+FA) групи где се поред стандардне хране додавале омега масне киселине.

Очигледно је да оланзапин има јасног потенцијала и утицаја на појаву лобуларне инфламације, без обзира на додавање у исхрани омега масних киселина (табела број 28).

Табела број 28. Присуство лобуларне инфламације – (CTRL+OLZ+FA) групи

Лобуларна инфламација	1	2	3
	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.		x	
2.			x
3.			x
4.			x
5.			x
6.			x

Резултати PD група, експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска *κL-arginin*, *L-ornitin*, *L-triptofan* и *α-ketoglutarao*мпонента 80% - протеини сурутке са дефинисаним аминокиселинама и протеинска компонента 20% - Коензим Q10, цинк-глуконат, Витамин B₆)

Приказ хистолошких анализа у експерименталној (PD) групи, као и свим подгрумама експерименталне групе (PD+OLZ) групи (храна богата протеинима храна плус оланзапин), (PD+FA) групи (храна богата протеинима плус омега масне киселине) и (PD+OLZ+FA) групи (храна богата протеинима плус омега масне киселине плус оланзапин)

Резултати патохистолошке анализе приказани су табеларно и графички у односу на групу.

За сваку групу праћене су три форме могућих масних промена у ткиву јетре; појава укупних масних промена, појава балониране дегенерације ћелија и појава лобуларне инфилтрације.

Детектоване масне промене у експерименталној PD групи

Масне промене - PD група

У табели број приказано је присуство детектованих масних промена у експерименталној (PD) група (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке без фармаколошког третмана).

Промене су манифестне највише у групи у којој су оне видљиве у распону од 0 до 5% узорака.

Резултати у табели 29, указују да нема разлика у односу на контролну групу

Табела број 29. Присуство масне промене - PD група

<u>Масна промена</u>	0 (5% лобулуса)	1 (5-33% лобулуса)	2 (33-66% лобулуса)	3 (>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.	x			
2.	x			
3.	x			
4.	x			
5.	x			
6.	x			

Присуство балонирајуће дегенерације – (PD) група

У табели број 30 приказано је присуство детектованих масних промена у форми балониране дегенерације у експерименталној (PD) групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке без фармаколошког третмана).

Промене су у већини случајева дефинисане као дискретне, док је у једном случају детектована изражена промена.

Табела број 30. Присуство балонирајуће дегенерације – (PD) група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.		
2.	x	
3.		
4.	x	
5.		x
6.	x	

Присуство лобуларне инфламације - (PD) група

У табели број 31 приказано је присуство детектованих масних промена у форми лобуларне инфламације у експерименталној (PD) групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке без фармаколошког третмана).

Промене су видљиве у 1-2 фокуса код 4 експериментална узорка, док су у два случаја ове промене видљиве у 2-4 фокуса.

Табела број 31. Присуство лобуларне инфламације

<u>Лобуларна инфламација</u>	1	2	3
	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.	x		
2.	x		
3.	x		
4.	x		
5.		x	
6.		x	

Мас

не промене - (PD+OLZ) група

(PD+OLZ) група - експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз примену оланзапина (примењиван је оланзапин у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално)

Присуство масних промена – (PD+OLZ) група

У табели број 32 приказано је присуство детектованих масних промена у експерименталној PD групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке са фармаколошким тертманом – оланзапин.

Промене су видљиве подједнако у групи које их детектују у распону од 5-33%, као и у групи од 33-66 %.

Промене се евидентно разликују у односу на групу која примала само протеин и где нису евидентирани промене изнад групе 1, а у односу на контролну групу са оланзапином (CTRL +OLZ), у којој је било масних промена и у групи 3 са више од 66% захваћених лобулуса (2 узорка), у овој групи промена изнад групе 2 није било.

Табела 25. Присуство масне промене- (PD+OLZ) група

<u>Масна промена</u>	0	1	2	3
	(5% лобулуса)	(5-33% лобулуса)	(33-66% лобулуса)	(>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.			x	
2.			x	
3.		x		
4.		x		
5.		x		
6.			x	

Присуство балониране дегенерације – (PD+OLZ) група

У табели број 32 приказано је присуство детектованих масних промена у форми балониране дегенерације у експерименталној (PD) групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке са фармаколошким тертманом – оланзапин.

Све детектоване промене описане су као изражене, што указује на јасан утицај оланзапина и увој групи и форми исхране, богатој протеинима сурутке.

Ове промене су идентичне променама у групи контролној групи са оланзапином- (CTRL +OLZ).

Табела број 32. Присуство балониране дегенерације – (PD+OLZ) група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.		x
2.		x
3.		x
4.		x
5.		x
6.		x

Присуство лобуларне инфламације – (PD+OLZ) група

У табели број 33 приказано је присуство детектованих масних промена у форми лобуларне инфламације у експерименталној (PD) групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке са фармаколошким тертманом – оланзапин.

Све детектоване промене описане су у подједнаком броју налаза (по три) и то и групи где су детектоване у 2-4 фокуса и у групи 3 где су детектоване у 3 и више фокуса, што указује на јасан утицај оланзапина и увој групи и форми исхране, богатој протеинима сурутке.

Табела број 33. Присуство лобуларне инфламације

<u>Лобуларна инфламација</u>	1	2	3
PD+OLZ група	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.		x	
2.			x
3.		x	
4.			x
5.		x	
6.			x

Масне промене - (PD+FA) група

(PD+FA) група - експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, *L-arginin*, *L-ornitin*, *L-triptofan* и *α -ketoglutarat*) и непротеинска компонента 20%: коензим Q10, цинк-глюконат, витамин B₆) уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA).

Присуство масних промена - (PD+FA) група

У табели број 34 приказано је присуство детектованих масних промена у форми укупних масних промена у експерименталној (PD) групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA). У овој групи нису детектоване масне промене изван опсега од 0 до 5% захваћених лобуса.

Табела број 34. Присуство масне промене – (PD+FA) група

<u>Масна промена</u>	0	1	2	3
PD+FA група	(5% лобулуса)	(5-33% лобулуса)	(33-66% лобулуса)	(>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.	x			
2.	x			
3.	x			
4.	x			
5.	x			
6.	x			

Присуство балониране дегенерације – (PD+FA) група

У табели број 35 приказано је присуство детектованих масних промена у форми балониране дегенерације у експерименталној PD групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA).

У овој групи нису детектоване масне промене изван опсега дефинисаних као дискретне и које су сличне као и у групи која је користила у исхрани само храну богату протеинима.

Табела број 35. Присуство балонирајуће дегенерације

<u>Балонирајућа дегенерација</u> PD+FA група	1 (дискретна)	2 (изражена)
Експериментална животиња		
1.	x	
2.	x	
3.	x	
4.		
5.	x	
6.	x	

Присуство лобуларне инфламације - PD+FA група

У табели број 36 приказано је присуство детектованих масних промена у форми лобуларне инфламације у експерименталној PD групи (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA).

У овој групи детектоване масне промене по форми лобуларне инфламације су детектоване доминантно у групи узорака где су исте описане у групи 1 (присуство у 1-2 фокуса) док је само један узорак евидентиран само из групе 2 (присуство у 2-4 фокуса).

Табела број 36. Присуство лобуларне инфламације- PD+FA група

Лобуларна инфламација	1	2	3
PD+FA група	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.	x		
2.	x		
3.		x	
4.	x		
5.	x		
6.	x		

Масне промене - (PD+OLZ+FA) група

(PD+OLZ+FA) група - експериментална група пацова храњена храном богатом протеинима (протеинска компонента 80%: протеин сурутке, *L-arginin*, *L-ornitin*, *L-triptofan* и *α-ketoglutarat* и непротеинска компонента 20%: коензим Q10, цинк-глуколат, Витамин В₆) уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA) и којој се примењује оланзапин у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално.

Присуство масних промена - (PD+OLZ+FA) група

У табели број 37 приказано је присуство детектованих масних промена у форми укупних масних промена у експерименталној PD групи која је била изложена фармаколошком оланзапинском третману (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA), као и примени оланзапина у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално.

У овој групи детектоване су масне промене у групи 1 и 2, односно у групама у којима је присуство масних промена описано у распону од 5-33% лобуса и 33-66% лобуса.

Табела број 37. Присуство масне промене - (PD+OLZ+FA) група

Масна промена	0	1	2	3
PD+OLZ+FA група	(5% лобулуса)	(5-33% лобулуса)	(33-66% лобулуса)	(>66% лобулуса)
Експериментална животиња				
1.		x		
2.		x		
3.			x	
4.			x	
5.		x		
6.		x		

Присуство балониране дегенерације – (PD+OLZ+FA) група

У табели број 38 приказано је присуство детектованих масних промена у форми балониране дегенерације у експерименталној (PD) групи која је била изложена фармаколошком оланзапинском третману (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA), као и примени оланзапина у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално.

У овој групи детектоване су масне промене у форми балониране дегенерације и описане као изражене у 5 анализираних узорака, док су само у једном ове промене описане као дискретне.

Утицај оланзапина је евидентно присутан на развој ове масне промене у ткиву јетре.

Табела број 38. Присуство балонирајуће дегенерације– (PD+OLZ+FA) група

<u>Балонирајућа дегенерација</u>	1	2
PD+OLZ+FA група	(дискретна)	(изражена)
Експериментална животиња		
1.		x
2.		x
3.		x
4.		x
5.	x	
6.		x

Присуство лобуларне инфламације – (PD+OLZ+FA) група

У табели број 39 приказано је присуство детектованих масних промена у форми лобуларне инфламације у експерименталној (PD) групи која је била изложена фармаколошком оланзапинском третману и додатку исхрани са омега 3 масним киселинама (експериментална група пацова храњена храном богатој протеинима сурутке уз додатак омега-3-масних киселина уз оброк свакодневно у виду фиксне оралне комбинације од 400 mg еикозапентаеноинска киселине (EPA) и 200 mg докозахексаеноинска киселина (DHA) (400 mg EPA+200mg DHA), као и примени оланзапина у дози од 7,5 мг/кг/дан интраперитонеално.

У овој групи детектоване су масне промене у форми липидне инфламације и доминантно у групи 2 (промене су детектоване у 2-4 фокуса) док је по један узорак остао у групи 1 / 1-2 фокуса) и групи 4 (више од 4 фокуса).

Утицај оланзапина је евидентно присутан на развој ове масне промене у ткиву јетре, али мање у групи 3 у односу на експерименталну групу – (PD+OLZ).

Табела број 39. Присуство лобуларне инфламације- (PD+OLZ+FA) група

<u>Лобуларна инфламација</u>	1	2	3
PD+OLZ+FA група	(1-2 фокуса)	(2-4 фокуса)	(> 4 фокуса)
Експериментална животиња			
1.		x	
2.	x		
3.		x	
4.			x
5.		x	
6.		x	

4.8. Финала процена некроинфламаторне активности лека

Сходно дефинисаном протоколу, некроинфламаторни потенцијал примене лека оланзапин је процењиван на основу добијених резултата бодовања некроинфламаторниг скорa за сва три елемента важна за процену њене манифестације (масне промене, балонирана дегенерација хепатоцита и лобуларна инфламација) и сумарна анализа по појединачним животињама је приказана у табели број 40, док су просечне вредности ових анализа процене, приказане у табели број 41.

Видљиве су значајно повећане вредности скор индекса у групама (контролне и експерименталне) које су биле фармаколошки третиране оланзапином.

Табела број 40. Сумирана анализа процене скорa некроинфламаторних промена

Групе			СКОР ОЦЕНЕ			СКОР
Назив групе	Групе	Број животиње	Масна промена	Балонирајућа дегенерација	Лобуларна инфламација	ТОТАЛ СКОР
	1	1	0	1	1	2
	1	2	0	1	2	3
CTRL	1	3	0	1	1	2
	1	4	0	1	1	2
	1	5	1	1	2	4
	1	6	0	1	1	2
	2	1	1	2	3	6
	2	2	1	2	3	6
CTRL+OLZ	2	3	3	2	2	7
	2	4	3	2	3	8
	2	5	1	2	2	5
	2	6	2	2	3	7
	3	1	0	0	1	1
	3	2	0	1	1	2
CTRL+FA	3	3	0	1	1	2
	3	4	0	0	2	2
	3	5	0	1	2	3
	3	6	0	1	2	3
	4	1	1	2	2	5
	4	2	1	2	3	6
CTRL+OLZ+FA	4	3	1	2	3	6
	4	4	2	2	3	7
	4	5	1	2	3	6
	4	6	2	2	3	7
	5	1	0	0	1	1
	5	2	0	1	1	2
PD	5	3	0	0	1	1
	5	4	0	1	1	2
	5	5	0	2	2	4
	5	6	0	1	2	3
	6	1	2	2	2	6
	6	2	2	2	3	7
PD+OLZ	6	3	1	2	2	5
	6	4	1	2	3	6
	6	5	1	2	2	5
	6	6	2	2	3	7
	7	1	0	1	1	2
	7	2	0	1	1	2
PD+FA	7	3	0	1	2	3
	7	4	0	0	1	1
	7	5	0	1	1	2
	7	6	0	1	1	2
	8	1	1	2	2	5
	8	2	1	2	1	4
PD+OLZ+FA	8	3	2	2	2	6
	8	4	2	2	3	7
	8	5	1	1	2	4
	8	6	1	2	2	5

Табела број 41. Резултат патохистолошке анализе- просек некроинфламаторне процене по групама

Назив групе	Групе/животиње	1	2	3	4	5	6	СКОП тогал	ПРОСЕК
CTRL	1	2	3	2	2	4	2	15	2,5
CTRL+OLZ	2	6	6	7	8	5	7	39	6,5
CTRL+FA	3	1	2	2	2	3	3	13	2,2
CTRL+OLZ+FA	4	5	6	6	7	6	7	37	6,2
PD	5	1	2	1	2	4	3	13	2,2
PD+OLZ	6	6	7	5	6	5	7	36	6
PD+FA	7	2	2	3	1	2	2	12	2
PD+OLZ+FA	8	5	4	6	7	4	5	31	5,2

4.9. Репрезентативни пресеци ткива јетре и приказ некроинфламаторне активности на основу добијених НИА скор вредности

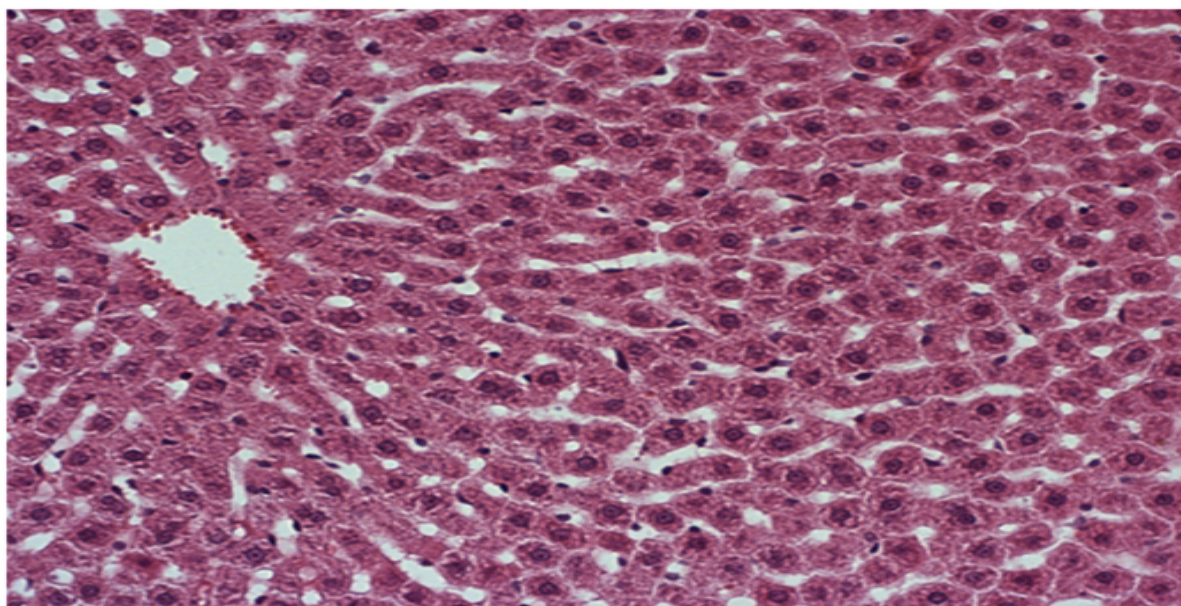
Током испитивање евидентирана је појава некроинфламаторне активности на испитиваном ткиву јетре. Оне су дефинисане као:

1. **Појаве врло ниског интензитета** - НИА врло ниског интензитета и представљене репрезентативним примерима у сликама (слике 11. 1, 3, 5 и 7)
2. **Појаве некроинфламаторне активности умереног укупног скор** - НИА умереног укупног скор и представљене репрезентативним сликама (слике 11. 2, 4, 6 и 8) и високог интензитета. (*H&E* бојење, оригинално увећање, x 40).

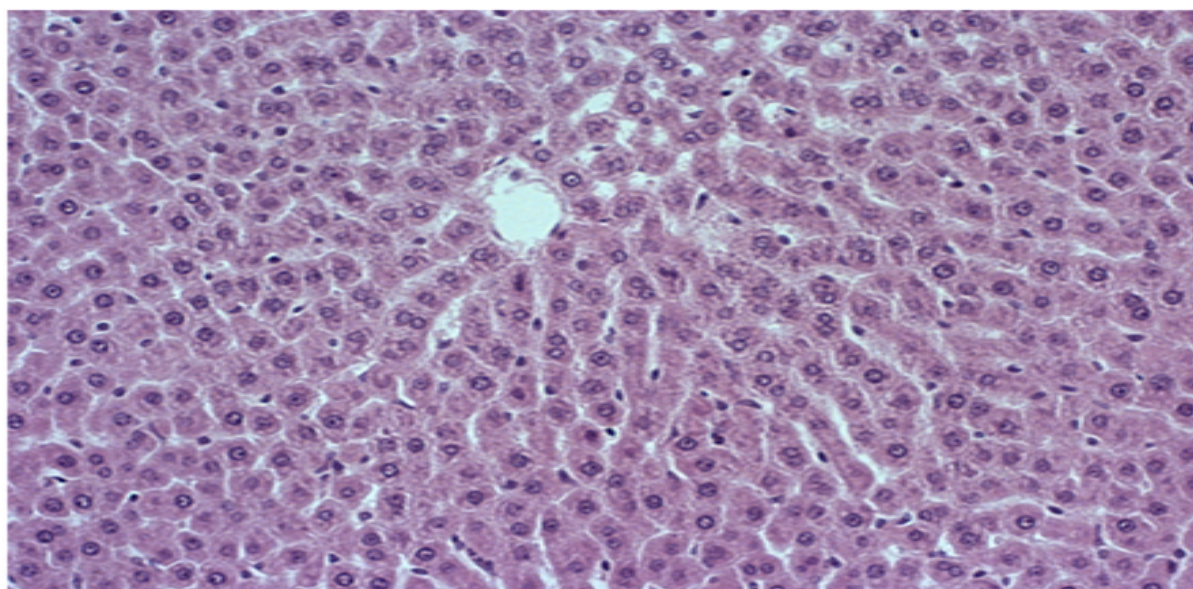
Евидентно је да су све слике које показују некроинфламаторну активност на пресецима ткива јетре били тертирани оланзапином у обе групе.

9.1 НИА – некроинфламаторна активност врло ниског интензитета

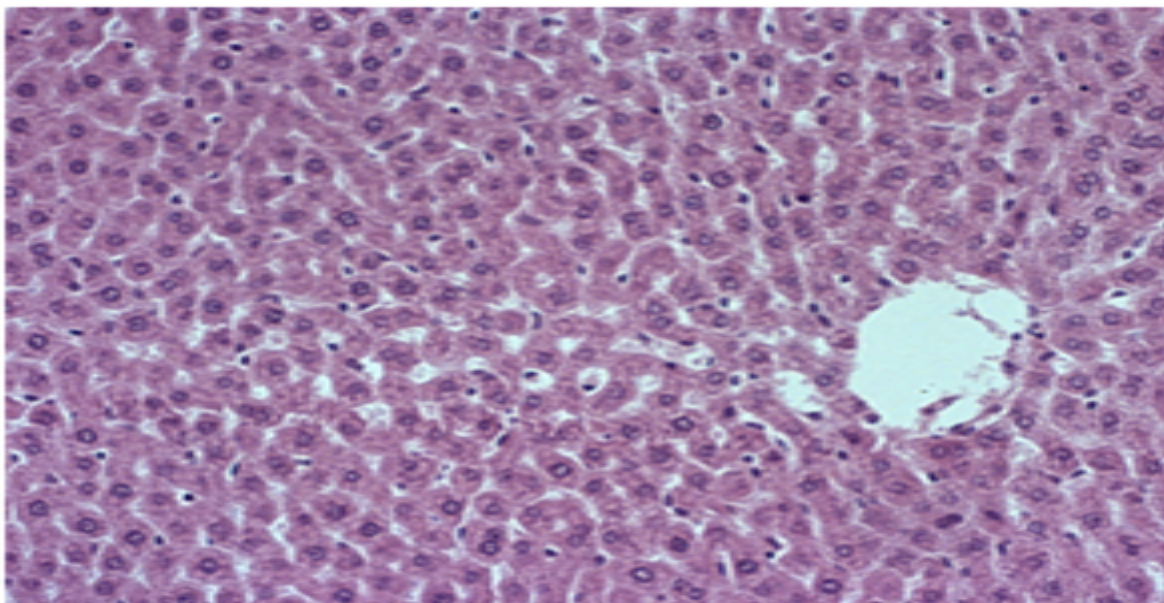
Слика број 11. 1 - НИА – некроинфламаторна активност врло ниског интензитета



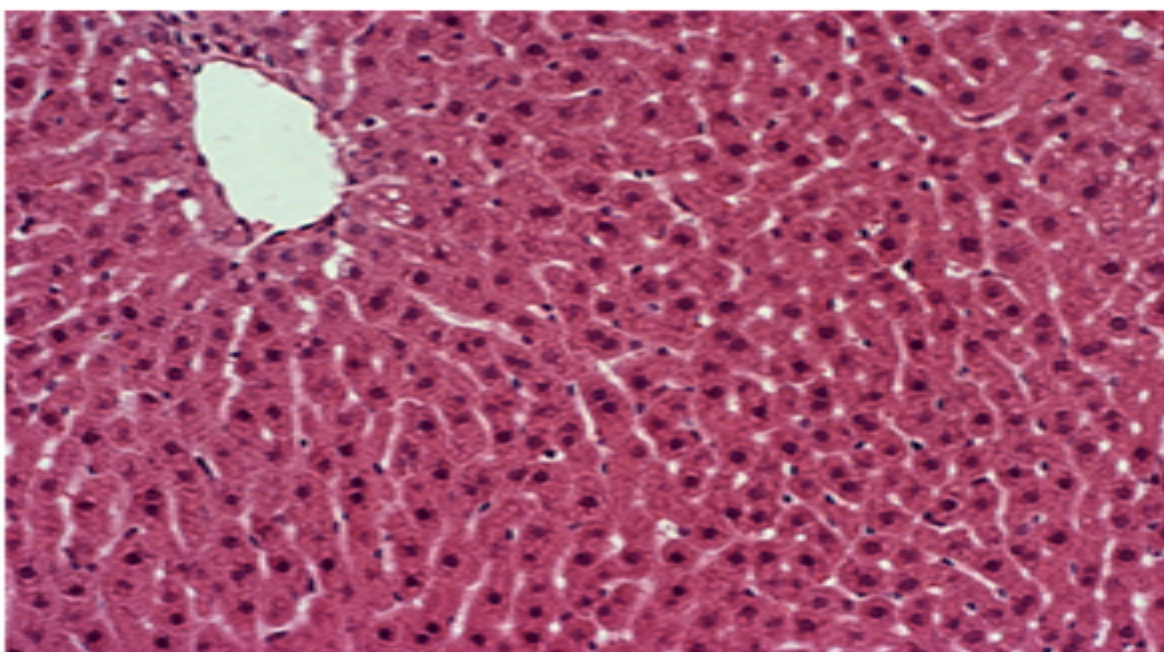
Слика број 11.3 - НИА – некроинфламаторна активност врло ниског интензитета



Слика број 11.5 - НИА – некроинфламаторна активност врло ниског интензитета

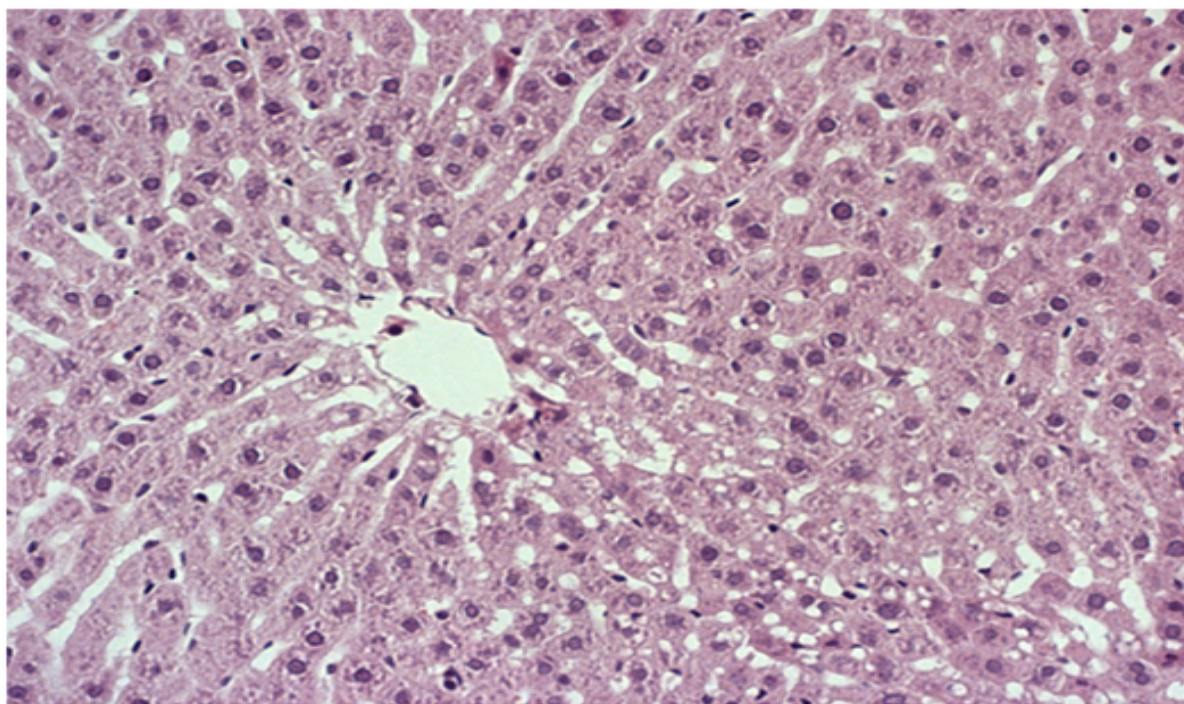


Слика број 11.7 - НИА – некроинфламаторна активност врло ниског интензитета

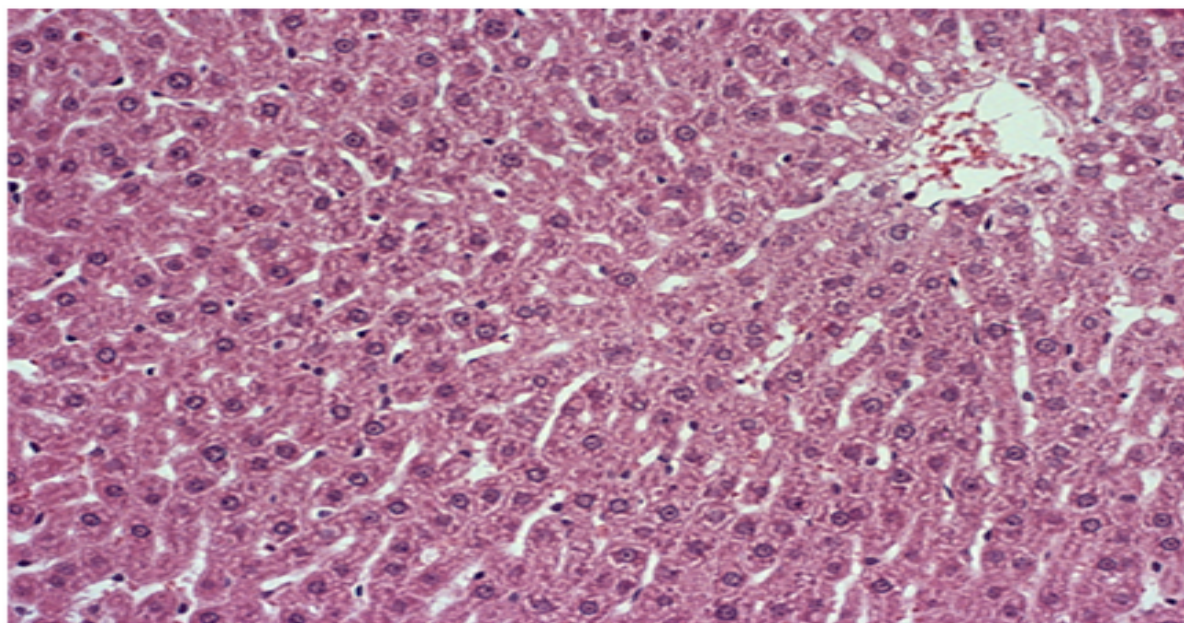


9.2 НИА - некроинфламаторна активност умереног укупног скорa су приказане сликама – 11. 2, 4, 6 и 8.

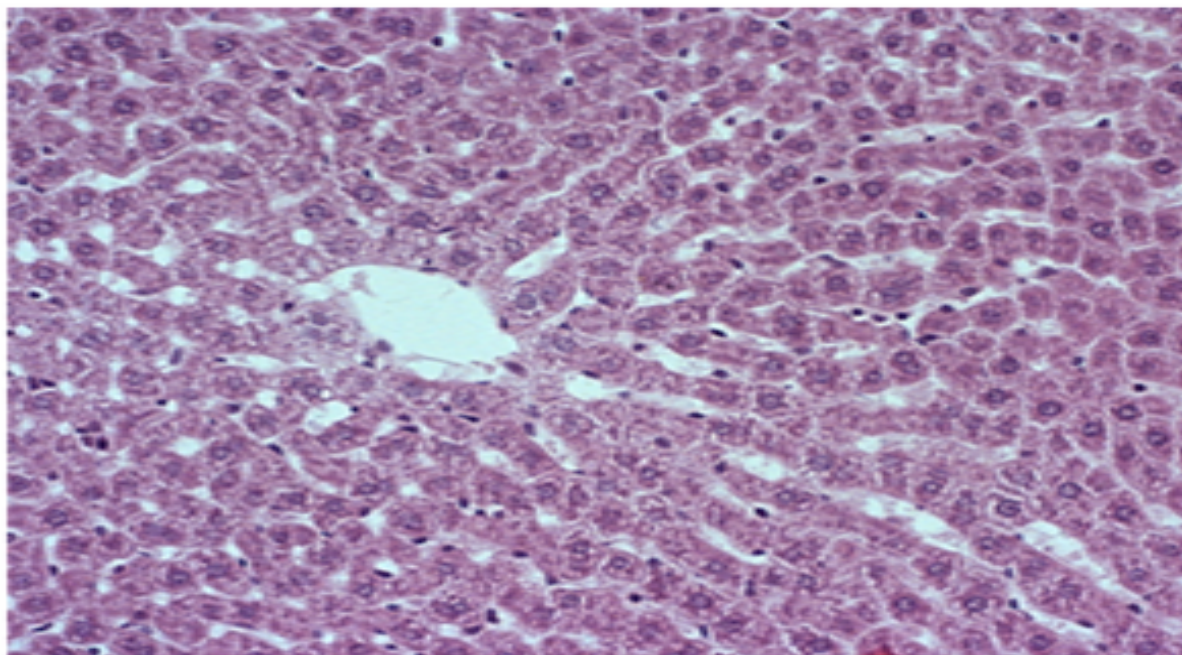
Слика број 11.2 - некроинфламаторна активност умереног укупног скорa



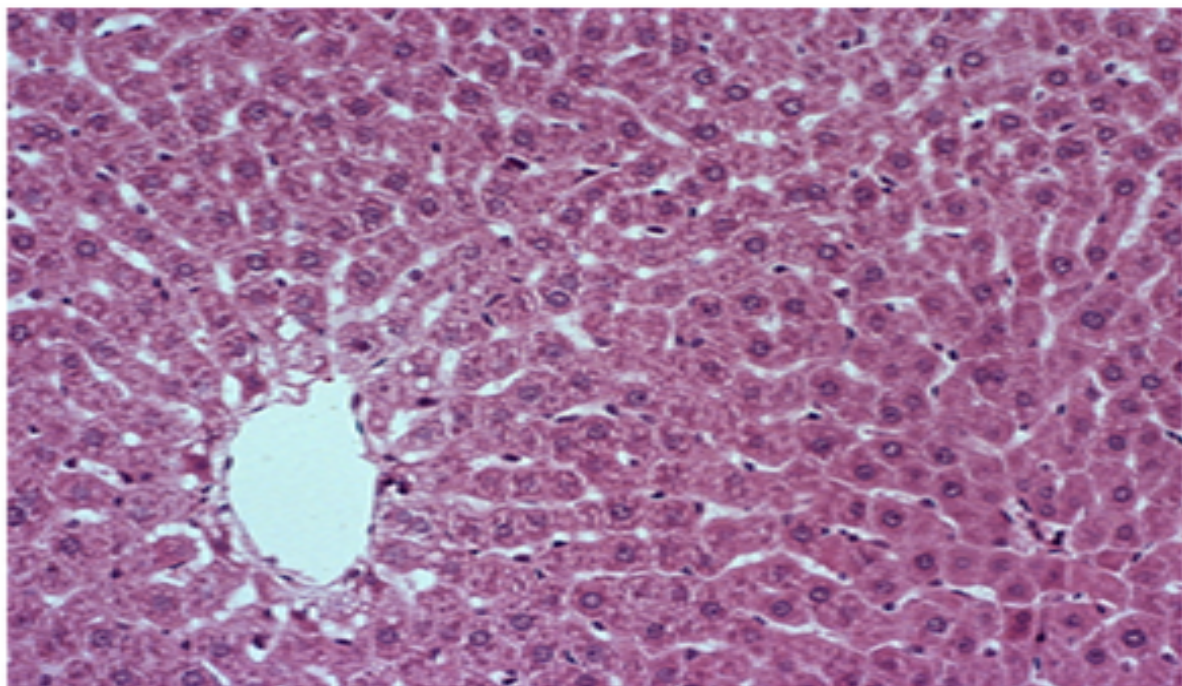
Слика број 11. 4 - некроинфламаторна активност умереног укупног скорa



Слика број 11. 6 - некроинфламаторна активност умереног укупног скорa



Слика број 11. 8- некроинфламаторна активност умереног укупног скорa

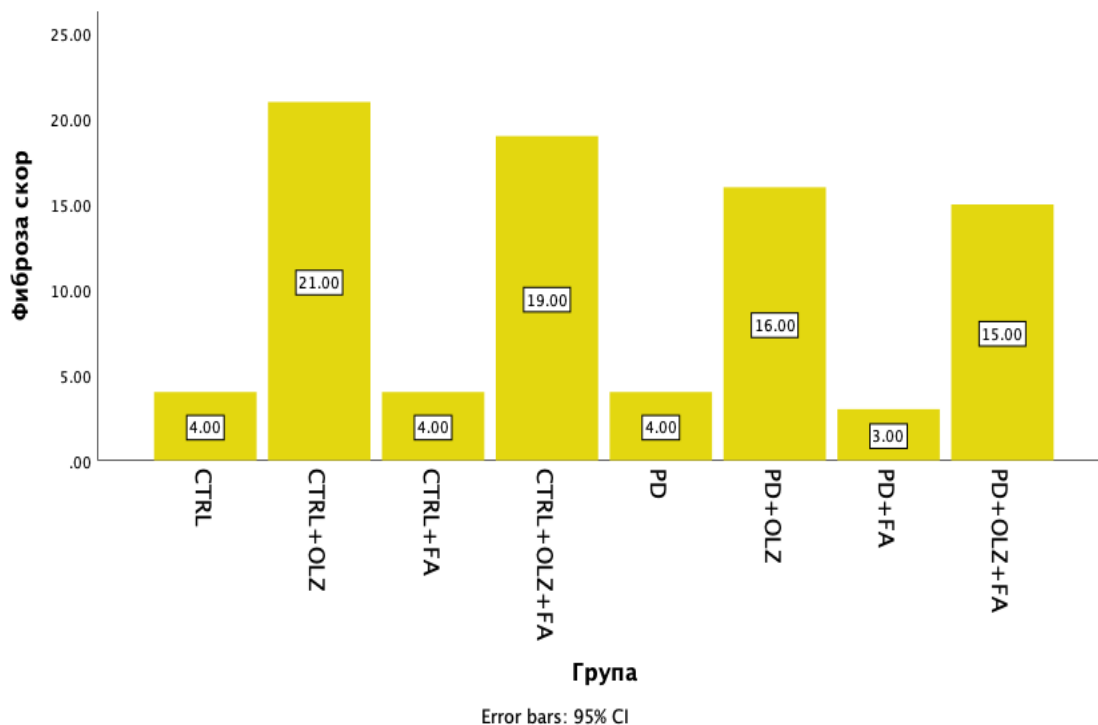


Процена фиброзних промена у ткиву јетре

Укупан скор фиброзе указује да је најинтезивније присуство фиброзних промена у групама које су третиране оланзапином у односу на друге групе. У случају осталих третмана (масне киселине и исхрана богата протеинима сурутке) није примећена значајна разлика у присуству фиброзних промена у односу на контролну групу.

Ове промене су приказане на графикону број 25.

Графикон број 25. Фиброзне промене (скор) у односу на групу



Процена фиброзних промена – приказ репрезентативних узорака ткива јетре

Фиброзне промене у односу на групу приказане репрезентативним сликама (слике 12. 1-8) на слици број 12. Оне су подељене у две групе;

- **Врло дискретна перицелуларна/перисинусоидална и портна/ перипортна фиброза** је исказана сликама (12.1,3,5 и 7) и које су повезане са контролним и експерименталним групама у којима се није додавала фармаколошки активна супстанца – оланзапин
- **Изражена перицелуларна/перисинусоидална, портна/ перипортна, перивенуларна и премошћавајућа фиброза** исказана сликама (12. 2,4,6 и 8) и које су повезане са контролним и експерименталним групама у којима је додана фармаколошки активна супстанца- оланзапин

Врло дискретна перицелуларна/перисинусоидална и портна/ перипортна фиброза која је исказана сликама (12. 1, 3, 5 и 7)

У анализираној групи која је приказана на слици број 12, сликама 1,3,5 и 7, лобуларна грађа јетре је очувана, у центру лобулуса се налази лако дилатирана вена од које се према портним просторима пружају углавном једноћелијске ламине хепатоцита између којих се налазе дискретно дилатирани синусоиди у којима се налазе ретки мононуклеари. Хепатоцити су регуларне цитоморфологије, само местимично су дегенеративно измењени, најчешће са балонирањем лакостепеног градуса 1. Портни простори су местимично лако проширени, углавном нормалне целуларности. Везиво је ретко присутно и то у виду тананих, цртастих нити, локализованих или перицелуларно/перисинусоидално, у зони 3 ацинуса или у портним просторима, без фаворизовања било које групе и било ког типа фиброзе.

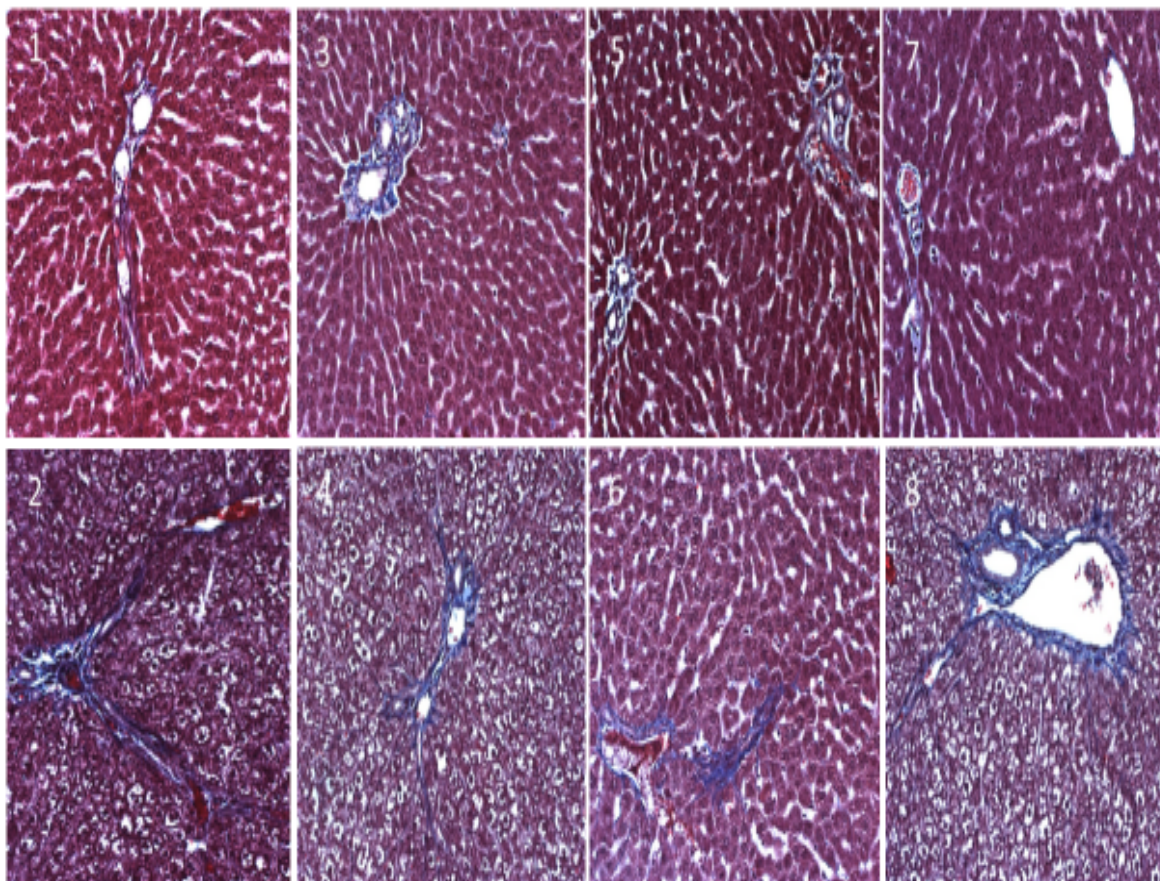
Масна промена генерално није присутна.

Врло дискретне разлике су присутне у броју интралобуларно локализованих мононуклеара између контролних (1 и 3) и експерименталних група (5 и 7).

Добијени скор некроинфламаторне активности у распону од 2-2,5, као и стадијума фиброзе од 0,2 - 0,4 (ближе 0), указују да у прегледаним узорцима јетре нема елемената неалкохолне масне промене односно неалкохолног стеатохепатитиса.

Слика број 12. Фиброзне промене у односу на групу (1-8): врло дискретна перичелуларна/перисинусоидална и портна/ перипортна фиброза (12. 1,3,5 и 7) и изражена перичелуларна/перисинусоидална, портна/ перипортна, перивенуларна и премошћавајућа фиброза (12. 2,4,6 и 8) (*Masson trichrome*, оригинално увећање, x40)

ФИБРОЗА:



Изражена перицелуларна/перисинусоидална, портна/ перипортна, перивенуларна и премошћавајућа фиброза исказана сликама (12. 2,4,6 и 8) и које су повезане са контролним и експерименталним групама у којима је додавана фармаколошки активна супстанца- оланзапин

Ради се о анализама које су повезане са контролним и експерименталним групама у којима је додавана фармаколошки активна супстанца- оланзапин. У анализираној групи које се исказане сликама број 12. 2, 4, 6 и 8 групи, јетрин паренхим је био у различитом степену нарушене лобуларне грађе, са израженом конгестијом у виду дилатираних централних вена и синусоида. Масна промена је доминантно микровезикуларна, у различитом обиму захвата лобулусе, најчешће и највише перивенуларну зону 3, у виду богате цитоплазматске вакуолизације хепатоцита. Запаљенски инфилтрат је локализован интралобуларно, у проширеним портним просторима, доминантно је моноклеарног типа, са полиморфонуклеарним ретким леукоцитима и фокалним формирањем грануломатозних агрегата.

Балонирајућа дегенерација хепатоцита је у свим групама евидентно присутна и значајног је степена 2.

Фиброза је присутна у виду краћих и дужих, тањих нити и дебљих влакана, локализована перицелуларно/ перисинусоидално, перивенуларно и перипортно, код око трећинне узорака са портно-портним и портно-венуларним премошћавањем.

Цирозе, вероватне и дефинитивне није било.

Местимично су уочени и знаци холестазае, најчешће у виду холатостазае и појаве билијарних тромба. Ређи су знаци гликогенизације једара и адаптивне *ground glass* промене. За разлику од 1,3,5 и 7 групе, у групама животиња третираних оланзапином (2, 4,6 и 8) скор некроинфламаторне активности (НИА) је варирао у распону од 5,2 до 6,5 и заједно са стадијумом фиброзе (Ф) од 1,5 до 2,1, микроморфолошки је одговарао постојању неалкохолног стеатохепатитиса.

Стадијум фиброзе је пратио повећање некроинфламаторне активности, тако да између свих животиња третираних оланзапином, најизраженије промене су постојале код уобичајено храњених животиња (НИА=6,5; Ф=2,1), а најмање код животиња на протеинској исхрани и супституцији (НИА=5,2; Ф=1,5).

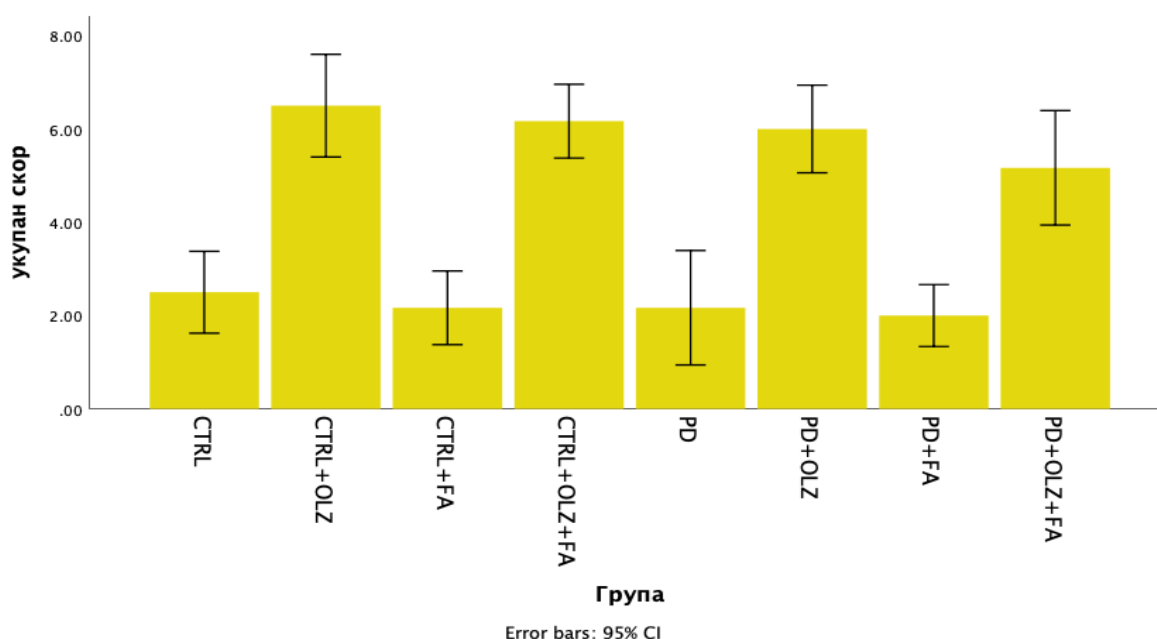
Присуство цирозе и осталих знакова оштешења

Цирозе, вероватне и дефинитивне није било. Местимично су уочени и знаци холестазае, најчешће у виду холатостазае и појаве билијарних тромба. Ређи су знаци гликогенизације једара и адаптивне *ground glass* промене.

Статистичка анализа детектованих промена ткива јетре у контролној и експерименталној групи

Укупан скор патохистолошких промена између група је приказан на графикону број 25.

Графикон број 25. Укупан скор патохистолошких промена (масна промена, балонирајућа дегерација и лобуларна инфилтрација-знаци неалкохолне масне дегенерације јетре) у односу на групу



Група са протеинима суруке, омега масним киселинама и оланзапином (P+OLZ+FA) је остварила најниже вредности укупног скорa у односу на контролну групу са оланзапином (CTR+OLZ) и која је била нижа за 20%. Ипак, иако се може говорити о некој врсти тренда смањења, статистички није потврђено постојање потврде те разлике.

Статистичком анализом утврђена је значајна разлика у насталим променама на нивоу ткива јетре, где су упоређиване вредности између контролних и експерименталних група. Највише вредности укупног скорa је покатала контролна група са оланзапином и она је била уједно највеће и у односу на све остале групе третиране са олазапином.

Са друге стране, евидентна је статистичка разлика значајности висине укупног некроинфламаторног скорa (CTR+OLZ) у односу на све остале групе без фармаколошког третмана, што указује на велики потенцијал оланзпаина да доведе до промена на јетрином ткиву и немогућности да у овим дозама и начину примене, протеини сурутке самостално или са омега масним киселинама остваре неки степен заштите ткива јетре.

Табела број 41. АНОВА анализа

ANOVA анализа	Sum of Squares	df	Mean Square	F	<i>p</i>
Између група	175,333	7	25,048	29,182	0
Унутар групе	34,333	40	0,858		

Приметна су интензивније промене у групама које су третиране оланзапином у смислу већег присуства масне дегенерације, балонирајуће дегенерације и лобуларна инфилтрација у односу на остале групе (графикон 26 – скор промена , табеле 42 а, 41 б - АНОВА анализе)

Табела 41 а. Статистичке значајности добијене поређењем група за укупан скор патохистолошких промена у односу на контролну (CTRL) групу

Група		Mean Difference (I-J)	Std. Error	p
CTRL	CTRL+OLZ	-4.00000*	0,53489	0
	CTRL+FA	0,33333	0,53489	0,998
	CTRL+OLZ+FA	-3.66667*	0,53489	0
	PD	0,33333	0,53489	0,998
	PD+OLZ	-3.50000*	0,53489	0
	PD+FA	0,5	0,53489	0,981
	PD+OLZ+FA	-2.66667*	0,53489	0
	CTRL+OLZ	CTRL	4.00000*	0,53489
CTRL+FA		4.33333*	0,53489	0
CTRL+OLZ+FA		0,33333	0,53489	0,998
PD		4.33333*	0,53489	0
PD+OLZ		0,5	0,53489	0,981
PD+FA		4.50000*	0,53489	0
PD+OLZ+FA		1,33333	0,53489	0,228
CTRL+FA		CTRL	-0,33333	0,53489
	CTRL+OLZ	-4.33333*	0,53489	0
	CTRL+OLZ+FA	-4.00000*	0,53489	0
	PD	0	0,53489	1
	PD+OLZ	-3.83333*	0,53489	0
	PD+FA	0,16667	0,53489	1
	PD+OLZ+FA	-3.00000*	0,53489	0
	CTRL+OLZ+FA	CTRL	3.66667*	0,53489
CTRL+OLZ		-0,33333	0,53489	0,998
CTRL+FA		4.00000*	0,53489	0
PD		4.00000*	0,53489	0
PD+OLZ		0,16667	0,53489	1
PD+FA		4.16667*	0,53489	0
PD+OLZ+FA		1	0,53489	0,579

Табела 42 б. Статистичке значајности добијене поређењем група за укупан скор патохистолошких промена у односу на експерименталну (PD) групу

Група		Mean Difference (I-J)	Std. Error	p
PD	CTRL	-0,33333	0,53489	0,998
	CTRL+OLZ	-4.33333*	0,53489	0
	CTRL+FA	0	0,53489	1
	CTRL+OLZ+FA	-4.00000*	0,53489	0
	PD+OLZ	-3.83333*	0,53489	0
	PD+FA	0,16667	0,53489	1
	PD+OLZ+FA	-3.00000*	0,53489	0
	PD+OLZ	CTRL	3.50000*	0,53489
CTRL+OLZ		-0,5	0,53489	0,981
CTRL+FA		3.83333*	0,53489	0
CTRL+OLZ+FA		-0,16667	0,53489	1
PD		3.83333*	0,53489	0
PD+FA		4.00000*	0,53489	0
PD+OLZ+FA		0,83333	0,53489	0,771
PD+FA		CTRL	-0,5	0,53489
	CTRL+OLZ	-4.50000*	0,53489	0
	CTRL+FA	-0,16667	0,53489	1
	CTRL+OLZ+FA	-4.16667*	0,53489	0
	PD	-0,16667	0,53489	1
	PD+OLZ	-4.00000*	0,53489	0
	PD+OLZ+FA	-3.16667*	0,53489	0
	PD+OLZ+FA	CTRL	2.66667*	0,53489
CTRL+OLZ		-1,33333	0,53489	0,228
CTRL+FA		3.00000*	0,53489	0
CTRL+OLZ+FA		-1	0,53489	0,579
PD		3.00000*	0,53489	0
PD+OLZ		-0,83333	0,53489	0,771
PD+FA		3.16667*	0,53489	0

ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

5.1. Анализа утицаја временски дефинисане примене оланзапина на настанак и развој не-алкохолне масне болести јетре пацова

Лечење оланзапином је повезано са ризиком од раста телесне тежине и појаве компликација у виду метаболичког синдрома. Повећани апетит и потреба за узимањем хране је током примене лека оланзапин евидентна у односу на остале антипсихотике. Последице ових симптома је повећање тежине и оно је описано у сажетку карактеристика лека оланзапин, као веома често ($\geq 1/10$) (361). Ова појава је присутна како током краткотрајне, такм и дуготрајне примене лека. Раст телесне тежине са оланзапином је повезана са могућношћу развоја оштећења ткива и органа посебно кардио-метаболичких обољења (111, 112, 113). Раст телесне тежине су праћена лабораторијским показатељима, који се могу повезати и са оштећењем одређених ткива и органа, посебно у јетри као централном органу везаном за низ важних метаболичких процеса. Оланзапин, повећавајући телесну тежину, видљиву и кроз стомачну гојазност, се може повезати са изразитим смањењем инсулинске осетљивости, која је добрим делом настала и у јетри, што за последицу може имати и повећани ризик од појаве дијабетеса типа 2 (100). С обзиром да је код тешких психијатријских поремећаја приметно присуство метаболичког синдрома које је повезано са високим кардиоваскуларним ризиком, терапија са оланзапином може бити ризична у компликовању већ ионако компликованих стања (110, 143)

Преваленција обољења јетре код пацијената са психијатријском болешћу, посебно код оних који су дуготрајно изложени деловању антипсихотичких лекова није до краја позната. Удружени фактори ризика заједно са метаболичким утицајем лека, нису само карактеристична и видљива на нивоу јетре, већ могу бити штетни за функционисање организма, што значи да локална оштећења превазилазе она која су карактеристична за сам орган (81). Спектар поремећаја манифестних је доста разнолик - од почезних масних промена у јетри, преко појаве безалкохолног стеатохепатитиса са порастом фиброза која може довести и до цирозе са последичним даљим компликацијама (185). Метаболички синдром има широк клинички спектар препознавања. Појава не алкохолне масне болести јетре (НАФЛД) најчешће указује да је развој болести дефинисан као умерено тешко стање.

Гојазност, резистенција на инсулин и дијабетес мелитус типа 2 (Т2ДМ) главни су фактори који доприносе развоју НАФЛД. Јасно је да овом проблему значајно доприноси и примена одређених лекова (190,191). Кардиометаболичке компликације примене оланзапина и клозапина су познате и описане су. Крећу се од почетног повећања осећаја глади, преко раста телесне тежине, пораста инсулинске резистенције и нагомилавања масти у органима и телу оболелог, преко лабораторијских манифестација које указују на поремећај липидног и гликемијског профила пацијената и на крају се завршавају с манифестацијама кардио-васкуларних и метаболичких обољења која сама по себи компликују и драматизују клиничку слику оболелих пацијената. Тај својеврсни метаболички ауто пут у развој кардиометаболичких компликација је јасно временски завистан и детерминисан (35)

5.2. Утицај оланзапина самостално или у комбинацији са протеинима сурутке, самостално или у комбинацији са омега масним киселинама на вредности телесне тежине

Примена оланзапина доводи до појаве раста телесне тежине. Све групе су током експеримента имале раст телесне тежине, с обзиром да су услови експеримента били такви да су животиње биле на различитим режимима исхране и без значајне физичке активности која би могла да утиче на калоријску потрошњу хране. Раст тежине је константан и евидентан током шестонедељног трајања истраживања. Већи раст је евидентиран у контролним групама у односу на експерименталне, али је видљиво да су највећи прирасти видљиви у фармаколошки третираним групама. Примена оланзапина у контролној групи (CTRL+OLZ) је остварила највећи прираст у тежини од 61,99%, а следи је контролна група са оланзапином и омега масним киселинама (CTRL+OLZ+FA) са прирастом од 56,15%. Између ових група није било статистички значајних разлика, па је закључак да омега 3 масне киселине као додаток исхрани током заједничке примене са оланзапином нема утицаја на контролу раста тежине.

Поређењем прираста у контролној групи са оланзапином (CTRL+OLZ) у односу на протеинску групу са оланзапином (PD+OLZ) која је остварила прираст од 55,26%, може се закључити да је разлика статистички значајна и да је примена протеинске исхране корисна у контроли раста тежине током терапије са оланзапином.

Контролне групе (CTRL), које су биле третиране оланзапином, имале су интензиван и сталан раст телесне тежине. На графикону број 8, је приказан прираст телесне тежине у свакој групи током истраживања и на њему је видљив значајнији прираст тежине у другој половини експерименталног периода, конкретно након треће недеље третмана. Иако видљив, овај раст телесне тежине није био статистички значајан са осталим контролним групама. Логично је да ће до раста тежине доћи, услед чињенице да су животиње биле константно храњене, али без физичке активности. У односу на контролну групу (CTRL), где је проценат прираста износио 52,06 %, најизраженији раст телесне тежине је забележен у контролној групи третиране оланзапином (CTRL+OLZ) и износио је 61,99%, као и у групи са омега масним киселинама (CTRL+OLZ+FA) са 56,15%. Најмањи проценат прираста у контролној хрупци је имала група на стандардној исхрани и додатком омега 3 масних киселина (CTRL+FA) и где је овај прираст износио 44,86 %. Овај прираст масе, иако је био најнижи у контролној групи, такође није био статистички значајан.

Резултати истраживања указује на селективне позитивне ефекте примене протеина сурутке самостално или у комбинацији са омега масним киселинама и превенирања настанка нежељених ефеката оланзапина везаних за раст телесне тежине.

Директним поређењем контролне и експерименталне групе са протеинима сурутке и оланзапином (CTRL+OLZ у односу на PD+OLZ), остварена разлика у мањем расту телесне тежине је била статистички значајна у корист протеинске групе где је прираст телесне масе (61,99% у односу на 55,26%).

Поређењем контролне и протеинске групе са оланзапином и омега масним киселинама (CTRL+OLZ+FA у односу на (PD+OLZ+FA), остварена је највећи утицај на смањење прираста телесне тежине и остварена је статистички значајна разлика у корист експерименталне групе (56,15% у односу на 26,63%), што представља скоро дупло мањи раст телесне тежине. Заједничка примена протеина сурутке и омега масних киселина је очигледно деловала корисно у контроли раста телесне тежине изазване деловањем оланзапина.

Ретроспективна анализа праћења брзих промена тежине код пацијената лечених антипсихотицима, показала је да је код 15% испитаника, промена телесне тежине била већа од 7% раста током првих 6 недеља лечења, са просечним повећањем телесне тежине од око 4% током прве 2 недеље (114). С обзиром да је експеримент трајао 6 недеља и да је у комбинованој примени оланзапина са протеинима сурутке и омега масних киселина дошло до контроле прираста за 60% у односу на контролну групу са оланзапином, оваква комбинација додатака исхрани се може сматрати потенцијално корисном у дијететским препорукама за исхрану пацијената на терапији са оланзапином током почетка терапије у првих пар месеци примене.

За разлику од група које су третиране оланзапином и код којих је раст телесне тежине евидентан за све време трајање експеримента, у групама које су биле третиране без оланзапина, ефекат контроле прираста тежине је био видљив у последње две до три недеље експеримента, што потврђује снагу утицаја оланзапина на раст тежине који је временски изражен од самог почетка његове примене. Упоредијући групе без фармаколошког третмана, контролна група (CTRL) је имала већи раст масе у односу на групу (PD) и делимично у односу на групу са масним киселинама (PD + FA). С обзиром да је најмањи прираст масе у односу на све групе остварила група (PD + FA) у износу од 17,49%, јасно је да је оваква примена, посматрано из угла раста телесне тежине и његове контроле, најбоља и да има своју употребну вредност, што се показало и у групама са оланзапином.

Овакви резултати су очекивани и у складу са постављеним хипотезама, а имају и потврду у литературним подацима, који указују на побољшање ефекта губитка килограма код пацијената који су у својим дијетама користили већи проценат примене протеина у исхрани. Побољшање губитка килограма постиже се применом типичне дијете састављене од 15% протеина, <30% масти и 50 до 55% угљених хидрата, у корист дијете састављене од веће заступљености протеина и омега масних киселина (30% протеина, уз већу потрошњу мононезасићених и н-3 полинезасићених масти, смањену употребу до 40% угљених хидрата), као и са већом применом влакана, изофлавона и антиоксиданаса (362). Нормално, додавање већег процента свежег воћа, тестенина ниског индекса гликемије, као и пиринча у исхрани у делу примене угљених хидрата додатно повећавају ову предност (363). Нижи калоријски унос енергије резултује и са нижим степеном раста телесне масе, па је очигледно важност рационалне припреме избалансираних дијета доста важна, како код здраве популације, тако и у популацији која се третира леком оланзапином.

Резултати истраживања указују да се слични ефекти и утицаји протеина сурутке у исхрани могу очекивати и током паралелне примене оланзапина, слично као и код популације која не користи лек, иако су ове вредности мање него у групама без лека. Овај закључак представља добру основу за даљу евалуацију постигнутог и креирања посебних индивидуалних дијета које имају за циљ контролу телесне масе како код здравих, тако и оболелих који су на терапији са оланзапином. Очигледно је да је калоријски унос калорија важан, али треба водити рачуна о извору калорија и њихове додатне позитивне ефекте на вредности телесне масе током исхране. Већи унос протеина на конту уноса угљених хидрата и масти, доводи до корисне замене класичне исхране (где се већи део енергије добија из масти и угљених хидрата), док протеинска исхрана поред евидентно ниског калоријског потенцијала, доводи и до већег осећаја ситости, смањења апетита, последичног повећаног уноса хране и прекомерне потрошње калорија, без значајне системске штете, посебно бубрежне, што указује и на

постајање и системског ефекта утицаја аминокиселина сурутке, а не само нискокалоријског (364).

Механизми системског деловања протеина сурутке се могу евидентирати и у доказаним ефектима деловања на повећање осетљивости на инсулин и позитивним деловањем на метаболизам липида. Изолати протеина сурутке, који представљају напреднију форму протеина, изазвали су већи пад резистенције на инсулин (305). Протеини сурутке показују позитиван утицај на ефекте гастроинтестиналних хормона повезаних са ситошћу. Пад концентрације грелина, повећање концентрације холецистокинина, пептида сличног глукагону (ГЛП 1), петидског тирозина и панкреасних полипептида, раст купне концентрације аминокиселина, урее и амонијака у плазми су биле увећане након уноса протеина сурутке и повезане су са падом телесне тежине и повећаним осећајем ситости код испитаника (365). Оланзапин може директно деловати на секрецију грелина и индукцију апетита, што резултира повећањем телесне тежине, па се позитивни ефекат деловања протеина сурутке на његову секрецију у смислу снижавања, могу посматрати као једним од потенцијалних заштитних ефеката деловања (366).

Добијене студијске резултате утицаја дијете базиране на повећаном уносу протеина сурутке и омега масних киселина на телесну тежину, можемо посматрати позитивно. Јасно је да дужина примене протеина сурутке у исхрани значајно утиче на резултате раста телесне тежине, што је веома важно јер је видљив и у групама са оланзапином. Имајући у виду комплексност лека оланзапин и његове описане механизме деловања на раст телесне тежине, јасно је да примена протеина сурутке самостално или у комбинацији са омега масним киселинама остварује позитиван ефекат на контролу прираста масе у посматраном временском периоду праћења, као уобичајено првог видљивог нежељеног деловања лека. Какав би био ефекат дуготрајне примене, дефинитивно би требало да буде предмет нових испитивања, посебно у комбинацији са применом других позитивних мера, пре свега контролисаном физичком активношћу.

5.3. Утицај протеина сурутке на вредности биохемијских параметара

Током истраживања праћен је липидни статус експерименталних животиња, као и параметри холестазног и холестатског оштећења јетре. Процена утицаја на метаболизам глукозе је рађена мерењем добијених вредности нивоа глукозе у односу на референтне, нормалне вредности. Везано за липидни статус анализирани су вредности укупног холестерола, HDL-холестерола, LDL-холестерола, триглицерида и они су важни као корисни показатељи метаболичких и развојних масних промена у ткиву јетре, док је праћење вредности гликемије било важно из разлога анализе овог прогностички важног знака за развој метаболичког синдрома. Када су у питању параметри који указују на статус оштећења ткива јетре на различитим нивоима ћелија и ткива органа, праћене су вредности укупног билирубина и гама глутамил трансферазе (γ GT), као показатеља холестазног статуса јетре и способности продукције жучи, док је праћење ензима аспартат аминотрансферазе (AST) и аланин-аминотрансферазе (ALT) било важно за процену постојања знакова оштећења јетриног ткива на ћелијском нивоу.

Праћење вредности ензима јетре су важне и са становишта анализе потенцијалног директног штетног ефекта деловања лека на ткиво јетре. Тестови функције јетре се користе за помоћ у дијагнози и праћењу болести или степена оштећења јетре на основу мерења вредности ензима које ћелије јетре ослобађају као одговор на оштећења, болести или на немогућности нормалне функције стварања протеина и стварања билирубина. Референтне вредности су преузете са релевантних сајтова референтних лабораторија (367).

АСТ- (*aspartate transaminase - AST*) - је ензим кога има највише у јетри, срчаном мишићу, делимично у мозгу, бубрезима, панкреасу, плућима и у низу других органа. Нормалне вредности су од 7-38 ИЈ /л. Повишене вредности АСТ-а су присутне код болести јетре, инфаркта миокарда, мишићне дистрофије, изразито високе вредности код вирусног хепатитиса, у акутном токсичном хепатитису, код опструктивног иктеруса, цирозе јетре, активног хроничног хепатитиса. Израженији пораст АСТ у односу на АЛТ се види код болесника са хроничном хепатоцелуларном инсуфицијенцијом, нпр.услед настанка цирозе јетре.

АЛТ- (*alanine transaminase- ALT*) - је ензим који припада групи аминотрансфераза. АЛТ се често назива и класичним јетриним ензимом, јер је највиша активност ензима АЛТ присутна у јетри. Повишене вредности указују на вирусни хепатитис, инфективну жутицу, моноклеозу, на акутно оштећење јетре, повишене су код болести панкреаса и код масовног инфаркта. Нормалне вредности се крећу од 8-41ИЈ/л.

Гама ГТ- (*gamma-glutamyltransferase- gamaGT*) - се налази у мембранама ћелија жучних путева и унутар ћелија јетре. Он је ензим који се сматра најосетљивијим индикатором обољења јетре и жучних путева, с обзиром да је сваки застој у стварању и отицању жучи може довести до расте вредности овог ензима. Велике вредности повећања ензима се дешавају код опструктивног иктеруса, као и случајевима акутног оштећења јетре (хемикалије, лекови, токсини, алкохол,...). Нормалне вредности су: 1 – 41 ИЈ/л.

Укупни билирубин (*bilirubin*)-мерењем билирубина у плазми одређује се збир коњугованог и некоњугованог облика, што представља укупни билирубин. Коњугована хипербилирунемија (повећана количина коњугованог билирубина) указује на постојање поремећаја у излучивању жучи на нивоу ћелије јетре-хепатоцита (хепатоцелуларни иктерус) или жучних путева (опструктивни иктерус). Због великог капацитета јетре за излучивање билирубина, слабији поремећаји у раду јетре не доводе до хипербилирубинемije, те је тај параметар слабо осетљив у препознавању обољења јетре. Нивои билирубина у серуму немају прогностички значај, нити говоре о тежини болести, осим код знакова алкохолне болести јетре. Нормалне вредности укупног билирубина су 2 - 21 ИЈ/ л.

Гликемија

Краткотрајна примене оланзапина током четири недеље је доводила до повећања стомачне гојазности, а она је била повезана са изразито смањеном инсулинском осетљивошћу у јетри, што је уобичајени налаз код појаве гојазности и дијабетеса типа 2 (100). Званични сажетак карактеристика лека оланзапин, указује на ове ефекте у делу мере опреза, па се из разлога постојања ризика од настанка хипергликемије и саветује стална контрола њене вредности. Користећи базу података о нежељеним догађајима Агенције за храну и лекове Сједињених Америчких Држава - (ФДА), ризик од дијабетес мелитуса повећан је за оланзапин, респеридон, клозапин и кветиапин, док је смањен ризик за халоперидол, арипипразол и зипрасидон (146).

Оланзапин је повезан са утицајем на повећање нивоа гликолизираног хемоглобина *-HbA1c* и евидентиран је директни утицај оланзапина на функцију β -ћелија панкреаса, али се развој дијабетеса повезује индиректно, услед раста телесне тежине и последичним централним адипозитетом и порастом резистенције на инсулин, чиме се објашњава развој дијабетеса мелитуса током времена (148). Индиректни пут развоја хипергликемије приписује се настанку развоја инсулинске резистенције и склоности коришћењу енергије из масних киселина, а не глукозе, па се овај ефекат може објаснити са брзо развијајућој инсулинској резистенцији (100, 130, 134, 135)

Резултати истраживања су интересантни и посматрани су не само директним упоређивањем статистички значајних разлика између група, већ и у односу на референтне нормалне вредности гликемије. Вредности гликемије су зато посматране и у односу на њихов дијагностичко-прогностички значај, с обзиром да је познато да различите вредности гликемије имају дефинисане утицаје на развој дијабетеса и његових компликација. Статистичком анализом није утврђена значајна разлика између група, што је било и очекивано, имајући у виду распоне референтних вредности нивоа гликемије и њихов дијагностичко-прогностички значај. То значи да је добијене вредности гликемије могуће класификовати сходно добијеним вредностима. Резултати истраживања показују блажи, али клинички значајан раст вредности гликемије у крви, у свим групама које су имале фармаколошки третман са оланзапином. Добијене вредности су посматране у односу на референтне вредности дефинисане Националним водичем клиничке праксе Србије и оне се могу анализирати на два нивоа (368). Ради се о анализи постојања ризика за настанак дијабетеса, као и дијагностичким критеријумима за дијабетес на основу вредности гликемије наше ујутру или у односу на вредности после ОГТТ теста.

а. Евидентирање вредности гликемије у односу на дијагностичке критеријуме за дијабетес и стања хипергликемије - (вредности гликемије од 6,1 ммол/л до 6,9 ммол/л) и које су приказане у табели број 43.

б. Постојање високог ризика од појаве дијабетеса – скрининг критеријуми- (вредности гликемије од 5,6 ммол/л до 6,9 ммол/л) и чије су поткатегорије приказане у табели број 44.

Табела број 43. Дијагностички критеријуми СЗО за дијабетес и стања хипергликемије

Дијабетес	
Гликемија наште	≥ 7,0 ммол/л
Плазма глукоза у 120 мин ОГТТ-а	≥ 11,1 ммол/л
Интолерација на глукозу	
Гликемија наште	< 7,0 ммол/л
Плазма глукоза у 120 мин ОГТТ-а	≥ 7,8 ммол/л и < 11,1 ммол/л
Оштећена гликемија наште	
Гликемија наште	6,1 до 6,9 ммол/л
Плазма глукоза у 120 мин ОГТТ-а	< 7,8 ммол/л

Табела број 44 . Вредности високог ризика за дијабетес – скрининг активности

Гликемија наште је у распону од 5,6 ммол/-6,9 ммол/л
ОГТТ тест - у 120 минути вредност гликемије је од 7,8 ммол/л до 11,00 ммол/л
НвА1с - вредности су од 5,7 до 6,4%

На основу дијагностичких критеријума, све групе без фармаколошког третмана су оствариле вредности гликемије које су у границама нормале (3,9 -5,6 ммол/л). Ризик од појаве дијабетеса је евидентиран у свим контролним и експерименталним групама које су биле у фармаколошком третману. Иако су све вредности које су добијене биле у распону од 5,6 до 6,9 ммол/л и које указују на постојање оштећења могућности метаболисања гликемије и интолеранције на глукозу, приметно је да су вредности гликемије у групи (CTRL+OLZ+FA) са резултатима од 6,97 ммол/л где је оланзапин примењиван са омега киселинама, као и у групи (CTRL+OLZ) где је вредност била 6,80 ммол/л, били на граници за дијагностиковање дијабетеса, док је истовремено експериментална група са применом оланзапина са протеинима сурутке и омега киселинама (PD+OLZ+FA), остварила просечну вредност од 5,82 ммол/л, која је била близу нормалних вредности гликемије.

Није остварена статистичка значајност постигнуте разлике између ових вредности, али резултати указују на значајност тренда добијених резултата.

Овај резултат указује да постоји потенцијал у контроли метаболизма глукозе од стране комбинације примене протеина сурутке и омега киселина, који иако недовољан за тоталну контролу вредности гликемије, указује на могући потенцијал контроле њеног метаболизма. Имајући у виду да су највеће вредности гликемије добијене у контролног групи оланзапина са масним киселинама, јасно је да се може размишљати о постојању потенцијалне користи комбинације протеина са омега киселинама када се примењују са оланзапином. Са друге стране, примена оланзапина самостално са

протеинима сурутке (PD+OLZ), остварује просечне вредности гликемије од 6,61 ммол/л, што указује да самостална примена оланзапина са протеинима није довољна за остваривање значајног ефекта на гликемију, као и да добијене трендове треба разматрати кроз ефекте комбинованог деловања протеина сурутке и омега масних киселина.

Контролне групе без фармаколошког третмана су имале нормалне вредности гликемије у крви (ниједна група није била изнад граничних вредности од 5,6 ммол/л) док су најниже вредности гликемије имале експериментална група са омега киселинама (PD + FA) вредност гликемије је 5,2 ммол/л и експериментална група са протеинима сурутке (PD) где је добијена вредност гликемије била уједно и најнижа и износила је 4,88 ммол/л. Сходно актуелном Националном водичу добре клиничке праксе за дијабетес, ове вредности се могу посматрати као нормалне и јасно указују на потенцијале примене ових додатака исхрани на превенцију развоја дијабетеса код здравих, као што се види и потенцијал делимичне заштите од хипергликемијског ефекта примене оланзапина.

Омега-3 киселине очигледно немају негативне ефекте на контролу гликемије код људи са дијабетесом, али такође ни јасне бенефитне. Очигледно је да се њихов доминантни ефекат евидентира деловањем на ниво триглицерида у плазми без статистичког ефекта на снижавање нивоа глукозе или инсулина (369, 370). Новија истраживања указују да се позитивни утицај на повећање осетљивости на инсулин може остварити применом препарата са релативно високим односом додатака ЕПА/ДХА услед значајног смањења запаљенских процеса код преддијабетичких пацова, што указује на потребу дуготрајнијег праћења ових ефеката, с обзиром да је коришћени производ управо из те групе (371). Закључак студијске мета анализе указују да дужина примене, састав омега 3 масних киселина, посебно однос ЕПА / ДХА, може утицати на њихов ефекат на контролу глукозе и ниво липида, као и да рано додавање омега 3 код здравих особа може донети корисније клиничке исходе (372).

Са друге стране, остварене вредности примене само протеина сурутке, остварили су најнижу вредност гликемије у експерименту од 4,88 ммол/л. Познати су позитивни утицаји изолата протеина сурутке на вредности постпрандијалних нивоа триглицерида и пад вредности резистенције на инсулин уз промене вредности гликемије код дијабетичара типа 2 (305). Побољшање осетљивости и смањивање резистенције на инсулин, после примене протеина сурутке се остварује једним делом и у успоравању развоја болести масне јетре и стеатозе, као важних фактора утицаја на инсулин и на смањивање ризика од развоја дијабетеса типа 2 (373).

Све наведено указује да је комбинована примена протеина сурутке и омега масних киселина, може имати позитивног потенцијала на контролу гликемије током терапије са оланзапином, али да је потребно пратити овај ефекат током дужег временског периода и уз рационалну примену физичке контроле. Самостални протеини имају најнижу калоријску вредност, али се заједнички потенцијал деловања омега киселина и протеина треба искористити у превенцији контроле гликемије, заједно са ефектима снижавања телесне тежине и развоја не алкохоле стеатохепатозе, који доприносе развоју резистенције на инсулин и развојем дијабетеса. Сигурно је да би додатна планска физичка активност имала позитивног ефекта на ове вредности. Овај закључак отвара могућности размишљања о могућностима примене додатних додатака у исхрани, као што су на пример биљни полифеноли који су показали веома благотворни механизам деловања на контролу вредности гликемије уз смањење

резистенције на инсулин и повећање осетљивости на исти код експерименталних животиња које су биле у метаболичком синдрому, додуше без примене оланзапина (374). Трајање ове студије која је била спроведена на експерименталним животињама-пацовима, је била 4 недеље, што је било довољно да се укаже на потенцијано корисне антиоксидативне, антизапаљенске као и потенцијало директне кардиопротективне фармаколошке ефекте деловања полифенола екстракта ароније на вредности позитивне гликемије и повећање осетљивости на инсулин уз смањење резистенције на исте.

Сходно литературним подацима, један од вероватних механизма деловања оланзапина на развој хипергликемије је развој инсулинске резистенције услед раста телесне масе и повећања масноћа у јетрином ткиву, па је и овај механизам тај на који протеини сурутке утичу протективно, јачајући осетљивост на инсулин, смањењем масне инфилтрације ткива јетре, како својим ниским калоријским ефектом уноса у односу на другу храну, тако и другим корисним ефектима. С тим у вези треба посматрати и не евидентирање заштитног ефекта омега масних киселина, за које је очигледно потребно време, док је механизам сличан али јасно је и спорији и остварује се преко контроле масних промена у јетри и смањењем резистенције на инсулин.

Липидни параметри

Механизми који стоје иза метаболичких поремећаја изазваних лековима као што су антипсихотици су још увек до краја нејасни. Клиничке студије сугеришу укључивање генске контроле процеса преко више гена, укључујући оне који кодирају хистаминске, α -адренергичке и серотонинске (5-НТ) рецепторе. Међу њима, НТР2с кодира рецептор 5-НТ 2с који делује у мозгу регулишући унос хране, телесну тежину и метаболизам глукозе (138, 144). Блокада НТР2с сигнализације код мишева доводи до хиперфагије и гојазности који подсећају на метаболичке симптоме код људи (145). Стопе метаболичког синдрома значајно су веће код шизофреније него у општој популацији. Оланзапин као атипични антипсихотик, повезан је са штетним ефектима на метаболичке факторе ризика. Пuteви и механизми који су у основи метаболичког синдрома као компликације антипсихотичког лечења нису у потпуности разумљиви. Сматра се да ефекти оланзапина на хистамин Н1, серотонин 5-НТ2с и мускаринске М3 рецепторе играју централну улогу у овом процесу. Поред тога, антипсихотици могу имати директне ефекте који узрокују неосетљивост на лептин, као и на регулисање апетита. И типични и атипични антипсихотици могу изазвати значајно повећање холестерола, триглицерида и липопротеина холестерола ниске густине. Ризик од хиперлипидемије разликује се код појединих антипсихотика. Ризик од хиперлипидемије је већи код пацијената који су на лечењу клозапином и оланзапином, посебно код млађих пацијената (149). Оланзапин, значајно повећава вредности укупног холестерола и ЛДЛ холестерола током 6 месеци студијског праћења (150). Мерење вредности липида у више временских контролних тачака током 28 недеља испитивања, током примене оланзапина је показало значајно повећање укупног холестерола. Механизам настанка дислипидемија током терапије са оланзапином је слабо разумљив, али се показало да оланзапин повећавајући липогенезу, смањује липолизу и појачава антилиполитичке ефекте инсулина у адипоцитима (151, 375).

Холестерол

Резултати истраживања указују да је концентрација укупног холестерола у серуму пацова прилично различита у свим групама и креће се од веома ниских па до повишених вредности. Као референтне вредности повишеног холестерола, узете су вредности које су веће од 5,2 ммол/л.

Трендови раста вредности холестерола су и статистички потврђени. Евидентно је да су значајно више вредности током истраживања регистроване у односу на референтну у контролним групама које су третиране оланзапином (CTRL+OLZ), где је добијена вредност од 7,66 ммол/л, као и у контролној групи са оланзапином и омега масним киселинама (CTRL+OLZ+FA) где су резултати били благо повећани и износили 5,43 ммол/л у. Овим резултатима је потврђен потенцијал оланзапина на раст вредности холестерола.

Директним поређењем добијених просечних вредности холестерола у крви, између контролне групе са оланзапином (CTRL+OLZ) и експерименталне са протеинима сурутке и оланзапином (PD+OLZ), добијене вредности од 7,66 ммол/л у односу на вредност од 3,16 ммол/л је била скоро дупло већа. Јасно се види позитивни утицај примене протеина сурутке на ефекат снижавања вредности холестерола и она је статистички потврђена. Статистичка значајност добијених вредности холестерола у контролној групи са оланзапином (CTRL+OLZ) је видљива и у односу на експерименталну групу где се поред протеина сурутке додавале и омега масне киселине (PD+OLZ+FA) и где су вредности још ниже и износе 2,89 ммол/л. Ова комбинована примена је позитивна па се може говорити о некој врсти синергије утицаја ове комбинације. Овај ефекат је показан и директним поређењем контролне и експерименталне групе (CTRL+OLZ+FA у односу на PD+OLZ+FA). Измерене вредност холестерола од 5,43 ммол/л у односу на вредност у експерименталној групи од 2,89 ммол/л је значајна и у оба случаја показује корисност ове комбинације, посебно указујући на значај комбиновања током примене оланзапина.

Са дуге стране, у групама без фармаколошког третмана остварене су нормалне вредности од 5,2 ммол/л, када се примењивала нормална исхрана, док је вредност холестерола после примене протеинске и омега исхране био на доњој граници нормале за холестерол од 3,1 ммол/л. Најниже вредности холестерола од 2,12 ммол/л су измерене у групи која је користила само протеине сурутке у исхрани (PD).

Јасно је да је овај позитиван механизам деловања на нивое холестерола вишеструк и да је у вези и са деловањем на контролу раста телесне тежине. Поред директног деловања ниског калоријског потенцијала протеина сурутке који је видљив и очигледно користан код потреба брзог деловања на вредности холестерола, треба сигурно уважити и индиректне ефекте деловања протеина и њиховог доказаног антиоксидационог потенцијала и контроли запаљенског процеса.

У закључку, оланзапин доказано значајно утиче на повећање вредности холестерола у крви и оне су у свим контролним групама са оланзапином биле изнад референтних вредности. Овај ефекат евидентно зависи од дужине времена примене, као и дозе примењеног лека оланзапина, па би постојећи видљиви протективни ефекат протеина сурутке самостално и у комбинацији са омега масним киселинама било интересантно истражити и у дужем временском периоду. Раст вредности холестерола после примене оланзапина су очигледно рани показатељи негативног утицаја лека, што

је познато. С обзиром да је вредност укупног холестерола користи у таблицама процене ризика од настанка кардиоваскуларних компликација („*HeartSCORE*“ систем), јасно је да овакво ефикасно смањење вредност холестерола може бити корисно у смањењу настанка компликација, посебно када се ова вредност посматра са смањењем вредности крвног притиска и престанком пушења (376).

ЛДЛ холестерол

ЛДЛ холестерол (*Low-density lipoprotein (LDL) cholesterol*) је веома важан као фактор процене ризика за развој коронарних обољења и атеросклерозе. Њега обично одстрањују ћелије јетре, преко својих рецептора на површини ћелија. Повећана синтеза укупног холестерола, делује и на стварање рецептора за ЛДЛ холестерола и његовог метаболизма, што доводи и до повећања његове вредности у крви. Резултати истраживања указују да су сви добијени резултати били у границама нормалних референтних вредности. Ни код једне групе није евидентирана висока ризична вредност преко 3,4 ммол/л која се води као гранична и где су вредности по правилу пожељне да буду ниже од ове вредности. Очигледно је да је дужина експозиције оланзапином важан фактор у развоју хиперхолестеролемије и да је повећање вредности укупног холестерола оно што се може очекивати као прва промена у липидном статусу. Слични резултати су добијени у студијском истраживању из Бразила, где је након 12 месеци праћења пацијената третираним оланзапином, вредности ЛДЛ, ХДЛ холестерола нису имале статистички значајан раст, док је раст вредности триглицерида постојао, али такође без статистичке значајност (377).

Међутим, добијене резултате треба посматрати и из угла процене постојања могућег кардиоваскуларног ризика. Модел који је коришћен током експеримента није био дефинисан као модел животиња са повишеним кардио-васкуларним ризиком. Поједине вредности су биле такве да се могу посматрати као предикатори постојања кардио-васкуларног ризика и ту се пре свега мисли на позитивни утицај на раст телесне тежине, повећања вредности гликемије и холестерола. Примена оланзапина сама по себи може бити тумачена као потенцијални кардиоваскуларни ризик, посебно током дуготрајне примене. Познато је да особе са шизофренијом и афективним поремећајима имају високу преваленцу фактора ризика за кардиоваскуларне болести, услед појаве дијабетеса и гојазности, који су реда 1,5 до 2,0 пута већи него у општој популацији (68). Додавање оланзапина на ову ионако компликовану ситуацију очигледно може само да је додатно компликује, тако да има основа размишљати о постојању повећања кардиоваскуларног ризика, посебно из угла дугорочне примене лека.

Код пацијената са повећаним кардиоваскуларним ризиком, вредности ЛДЛ холестерола се посматрају тако да су ниже вредности веома пожељне. У случајевима код врло високог ризика препоручује се да вредности ЛДЛ холестерола буду мање од 1,8 ммол/л, односно код високог ризика мање од 2,6 ммол/л, (табела број 45), а на основу анализе препорука дефинисаних са анализом ризика из „*HeartScore*“ препорука (378).

Табела број 45. Циљеви у терапији кардиоваскуларних обољења „HeartScore“ аналитика

Циљеви терапије у превенцији кардиоваскуларних обољења	
Пушење	Не излагати се дуванском диму у било којој форми
Исхрана	Здрава храна са ниским садржајем засићених масти и фокусом на житарице целог зрна, поврће, воће и рибу
Физичка активност	2,5 сати недељно, физичка активност умереног типа или 30 до 60 минута дневно током већег дела недеље
Телесна маса	БМИ 20 до 25 кг/м ² ; обим струка мањи од 94 цм за мушкарце и мањи од 80 цм за жене
Крвни притисак	Мањи од 140/90 мм живиног стуба
Липиди ЛДЛ-Ц је примарни циљ	Врло висок ризик- ЛДЛ Ц је мањи од 1,8 ммол/л или редукција за најмање 50% ако су просечне вредности између 1,8 и 3,5 ммол/л
	Висок ризик; ЛДЛ Ц мањи од 2,6 ммол/л или редукција за најмање 50% ако су просечне вредности између 2,6 и 5,2 ммол/л
	Низак до умерен ризик: ЛДЛ Ц мањи од 3,0 ммол/л
	НЕ-ХДЛ Ц - секундарни циљеви су вредности мање од 2,5, 3,4 и 3,8 ммол/л за врло висок, висок и низак до умерен ризик за КВС болести
	ХДЛ Ц ; без одређених циљних вредности, али је вредност мања од 1 ммол/л код мушкараца и 1,2 ммол/л код жена означена као ризична
	ТГ; без одређених циљних вредности, али вредност мања од 1,7 ммол/л означава нижи ризик, а више вредности означавају потребу да се размотре и други фактори ризика
Дијабетес	ХБА1ц; мањи од 7%

Пацијенти оболели од психоза који су на терапији са антипсихотицима се могу посматрати у односу на вредности ЛДЛ холестерола као особе које су високо ризичне.

Добијене просечне вредности ЛДЛ холестерола у експерименталним групама са протеинима сурутке и оланзапином су биле изузетно ниске. Протеинска група са оланзапином (PD+OLZ) је са вредношћу ЛДЛ холестерола од 0,88 ммол/л, као и у групи (PD+OLZ+FA) са вредношћу од 0,98 ммол/л, су остваривала изузетно ниске вредности које су као такве и пожељне сходно критеријумима дефинисаним повишеним кардиоваскуларним ризиком. Добијене вредности ЛДЛ холестерола под утицајем протеина су ниске, па можемо хипотетисати о постојању њиховог протективног ефекта, самостално (само протеини сурутке) или комбинације (протеини сурутке плус омега масне киселине). О овом утицају на ЛДЛ холестерол, најбоље говори и најнижа остварена вредност од само 0,25 ммол/л ЛДЛ холестерола, током примене протеина сурутке. Овакве вредности су у складу са добијеним резултатима и позитивним деловањем протеина сурутке на контролу раста телесне тежине и укупног холестерола, па се и поред непостојања статистички значајне разлике између самих група, не може искључити могућност постојања протективног утицаја протеина сурутке самостално или у комбинацији са омега масним киселинама, код јединки које су у високом кардиоваскуларном ризику.

У закључку, јасно је да је за рационално посматрање ЛДЛ липидног статуса, потребно водити рачуна, како о временској детерминанти процеса неопходног да изазове значајнији поремећај липидног статуса ЛДЛ холестерола, тако и о постојању

кардио-васкуларног ризика третиране јединке. Ни једна група (контролне и експерименталне) није остварила вредности овог параметра већег од референтних вредности од 3,4 ммол/л, али ако експерименталне животиње посматрамо као потенцијално ризичне, може се хипотетисати да протеини сурутке самостално или у комбинацији са омега масним киселинама, имају потенцијални заштитни ефекат који треба дефинитивно истражити дуготрајнијим студијским праћењем, као и кроз призму модела који је експериментално прилагођен постојању повећаног кардиоваскуларног ризика

Вредности ХДЛ холестерола

ХДЛ холестерол („*HDL cholesterol - High-density lipoprotein*“) је веома важан показатељ кардиоваскуларног ризика. Пожељне су више вредности у крви, па се вредности које су изнад 1,5 ммол/л сматрају одличним резултатима, иако се у последњим истраживањима указује на чињеницу да веома високе вредности ХДЛ-холестерола нису удружене са значајном атеропротекцијом (379). Са друге стране, низак ХДЛ-холестерол се показао као веома значајан и независан фактор ризика у неколико студија и користи се у више система за процену ризика, укључујући „*HeartScore*“, сходно Европским препорукама за лечење липидемија из 2016 године. На основу епидемиолошких студија, ниво ХДЛ-холестерола који је повезан са повећаним кардиоваскуларним ризиком је за мушкарце <1,0 ммол /л и за жене < 1,2 ммол /л, па се све вредности које су више од наведених могу сматрати пожељним, док се ниже вредности уобичајено посматрају као лош или бар упозоравајући.

Добијени резултати током истраживања указују да није утврђена значајна разлика у концентрацији липопротеина високе густине (HDL) између контролних и експерименталних група, мада је евидентан тренд раста његове вредности у групама пацова који су користили протеине у исхрани. Ако ове вредности посматрамо из угла процене кардиоваскуларног ризика сходно Европским препорукама за лечење липидемија и „*HeartScore*“ система процене ризика, можемо закључити да је у групи где је уз оланзапин додаване омега 3 масне киселине са протеинима сурутке (PD+OLZ+FA), остварена вредност од 1,12 ммол/л, сврстала добијене резултате у групу вредности које су веће од 1 ммол/л и које су пожељне.

Резултат добијен применом само протеина сурутке (PD), и који износи 1,32 ммол/л, посматран у односу на контролну групу CTRL (0,88 ммол/л), указује на хипотетички потенцијал протеина сурутке да утичу на вредности ХДЛ-а који су у већини случајева, посматрано из угла саме постигнуте вредности, више него пожељна.

У закључку, иако нису остварене статистички значајне разлике у вредностима ХДЛ холестерола током истраживања, како у експерименталним, тако и у контролним групама, добијене највише вредности ХДЛ холестерола од 1,32 ммол/л, евидентирани у групи (PD+OLZ+FA) и (PD), указују да су исте ипак веће од вредности од 1,0 ммол/л за мушкарце и 1,2 ммол/л за жене које се сматрају пожељним код постојања кардиоваскуларног ризика сходно референтним вредностима.

Триглицериди

Статистичком анализом није утврђена значајна разлика у концентрацији триглицерида између контролних и експерименталних група. Ни један добијени резултат није био у нивоу вредности које су могу сврстати као повишене (изнад вредности 1,7 ммол/л). Са друге стране посматрано, видљиве су разлике и реалним вредностима нивоа триглицерида између група које су третиране са оланзапином и онима које нису. Примера ради видљива је разлика између контролне групе са оланзапином и омега масним киселинама (CTRL+OLZ+FA) са добијеном вредношћу од 1,65 ммол/л, која је веома близу граничној вредности са референтном од 1,7 ммол/л и групе са протеинима сурутке са оланзапином и омега масним киселинама (PD + OLZ+ FA) са добијеном вредношћу од 0,75 ммол/л. Ове добијене вредности су очигледно повезане са утицајем омега масних киселина на вредности триглицерида, што је позната чињеница и закључци званичних терапијских протокола лечења, као и великих епидемиолошких и клиничких студија (227, 233, 380). Позната је чињеница да фармаколошке дозе н-3 масних киселина (2–3 г/дан) смањују ниво триглицерида до 30% и да Америчка асоцијација за срце (*American Heart Association*) препоручује да се ЕПА плус ДХА, у форми додатака исхрани користе код пацијената са хипертриглицеридемијом (234). Ове заштитне вредности омега масних киселина на вредности триглицерида су приметно изоловане, с обзиром да додавање протеина сурутке не утиче на трендове снижавања ових вредности, већ напротив имају тенденцију раста. Добијене резултате треба посматрати вероватно једним делом и на овај начин, јер непостојање значајнијих повећања вредности триглицерида у свим групама, вероватно има везе и са дужином трајања експеримента, као и чињеницом да није коришћена исхрана богата zasiћеним мастима, већ уобичајена. Потенцијал протеина сурутке који је у групи која је користила само протеине сурутке (PD) остварила вредности од само 0,42 ммол/л, треба посматрати самостално и кроз изузетно низак калоријски потенцијал овакве исхране.

Вредности ензима карактеристичних за степен оштећења јетриног ткива- АСТ (aspartate transaminase), АЛТ (alanine transaminase), укупни билирубин (bilirubin) и гама ГТ (gamma-glutamyltransferase)

Повишене вредности ензима јетре се јављају код 10% до 50% пацијената на дуготрајној терапији оланзапином (381,382). Ове абнормалности су обично благе, асимптоматске и пролазне и могу бити реверзибилне током наставка терапије. Најчешће се пријављују као прикази случајева. Забележени су случајеви повишења нивоа аминотрансферазе у серуму и клинички очигледних хепатитиса са жутицом код пацијената који су узимали оланзапин.

Резултати истраживања указују да су у односу на референтне вредности, вредности укупног билирубина и гама ГТ нису били ван референтних вредности (укупни билирубин 2-17 ммол/л и гама ГТ (1 – 41 ИЈ/л). То значи да не можемо да закључимо да постоји хипербилирубинемичка и значајно оштећење јетриног ткива у капацитетима за лучење билирубина. Слично је са гама ГТ ензимом, где добијене вредности не указују да постоје знаци опструктивног иктеруса, карактеристичним за акутно оштећење јетре. Концентрација укупног билирубина је била статистички значајно различита између вредности добијене код експерименталне групе са оланзапином и протеинима сурутке (PD+OLZ) и контролне групе са оланзапином (CTRL+OLZ), као и експерименталне групе протеина сурутке са омега киселинама (PD+FA), која уједно има и најниже вредности овог ензима у односу на све праћене групе, али опет је важно напоменути да су добијене вредности биле у нивоу референтних. Вредности ензима гама-глутамил трансферазе (*gama-glutamyl-transferaza-GGT*) није била статистички значајно повећана у свим упоредивим групама, иако су реалне вредности у групама са оланзапином највеће, уз чињеницу да је комбинована примена протеина сурутке и омега масних киселина са оланзапином (PD+OLZ+FA) довела до реално најнижих вредности у односу на остале групе са оланзапином.

Резултати истраживања указују и статистичком анализом је утврђена значајна промена вредности ензима АСТ-а (*Aspartat amino-transferaza (AST)*) и АЛТ- (*alanine transaminase*) међу групама. Када су вредности АСТ-а у питању, у свим групама су добијене значајно високе вредности које су далеко изнад вредности које се дефинишу нормалним (0-35 ИЈ/л). Групе које нису биле фармаколошки третирани су имале повећање вредности изнад референтних у мањем обиму. Међутим, добијене вредности ензима у фармаколошки третираним групама са оланзапином су имале драстично велика увећања у односу на референтне вредности. Вредности повећања ензима по опадајућим нивоима биле у контролној групи са оланзапином (CTRL+OLZ) 340,09 ИЈ/л (вредност је скоро десет пута већа од максимално дозвољене), експерименталној групи са оланзапином (PD+OLZ) 327,95 ИЈ/л, док је у експерименталној групи са протеинима сурутке, омега масним киселинама и оланзапином (PD+OLZ+FA) остварена вредност од 249,72 ИЈ/л. Овако велике вредности АСТ ензима, добијеним у истраживању нису уобичајене и по својим резултатима указују на акутни токсични хепатитис. Резултати нису карактеристични за примену оланзапина као модела његовог директног деловања, иако постоје појединачни описи случајева, али никако са овако високим вредностима (383).

Најниже вредности ензима, иако и даље изнад референтних вредности (40,56 ИЈ/л) су забележене у експерименталној групи где су коришћени протеини сурутке и омега масне киселине (PD+FA), које су биле ниже и у односу на контролну групу (CTRL) и контролну групу са омега 3 масним киселинама (CTRL+ FA). Вредност овог ензима је значајно била повишена и у групи која је у исхрани користила протеине (PD)

и износила је 191,16 Иј/л, а с обзиром да су најниже вредности постижане приликом примене омега масних киселина, очигледно је да високе вредности овог ензима и индикатора оштећења јетре можемо повезати поред очигледног утицаја оланзапина и са применом протеина паралелно током интраперитонеалне примене лека. Очигледно је да постоји могућност развоја неке форме хепатотоксичности услед утицаја оланзапина на начин како је лек примењиван током истраживања. Могућност изазивања хепатотоксичности оланзапином, показана је у студији током примене интраперитонеалног оланзапина у дози од 2 до 4 мг/кг телесне тежине током шест недеља примене, где су патохистолошки евидентирани дискретне промене опште архитектуре јетре, уз евидентирање повећања вредности јетриних ензима које су трајале током примене лека и повукле су се након прекида терапије (384,385). Студијска испитивања показују да овакав, интраперитонеални начин примене може изазивати оштећења и на другим органима. Примена већих доза оланзапина интраперитонеално, доводила је до нефротоксичности (2,5 мг/кг на дан током 6 недеља), а као сигурна доза предложена је доза од 0,5 мг/кг дневно (386). Као могући разлог настанка оштећења ткива јетре и потенцијално других органа као што су бубрези или панкреас током интраперитонеалне примене оланзапина, помиње се мушки пол животиња, монолитрна и неразноверсна исхрана, хронична примена високих доза оланзапина, дозирање оланзапина само једном дневно, деградација оланзапина у раствору пре примене (387). Са друге стране, веома важно, пораст АСТ ензима се може повезати и са значајном појавом стеатозе јетре, где услед нагомилавања масти унутар ћелија јетре долази и до значајног раста доминантно АСТ ензима и донекле АЛТ ензима, па се ова појава може третирати као значајно дијагностичка упозоравајућа вредност за постављање дијагнозе масних промена у јетри, насталих услед примене лека (388).

Активност АЛТ-а ензима (*Alanin-amino-transferaza (ALT)*) је била значајно промењена. У односу на референтне (0-45 ИЈ/л), нормалне вредности овог ензима су биле повећане у свим групама (контролним и експерименталним) које су биле фармаколошки третирани оланзапином, док су вредности ензима у контролним и експерименталним групама без фармаколошког третмана биле у границама нормале.

Најнижу вредност ензима је евидентирана у контролној (CTRL) групи и слично и у (CTRL+FA) групи. Вредности АЛТ ензима између (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ) група су биле сличне и обе значајно веће од нормалних вредности и без икаквих статистичких значајних разлика. Слично је и у групама (CTRL+OLZ+FA) и (PD+OLZ + FA). Добијене вредности су сличне, иако су ниже у односу на групе без омега масних киселина. Статистичком анализом утврђена је значајна разлика промена вредности АЛТ-а у контролним групама у односу на групе са фармаколошким третманом у смислу мањих вредности и то (CTRL) групе у односу на (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ) групе, (CTRL+OLZ) групе у односу на (CTRL), (CTRL+FA) и (PD+FA) групе.

О потенцијалном штетном деловању на ткиво јетре од стране протеина сурутке постоје мањи студијски описи. До повећања ензима јетре долазило је током експеримената на пацовима који нису били физички активни и који су користили високе дозе протеина током дуготрајне примене без паралелног уноса друге разноверсне хране. Повећања ензима се објашњавају потенцијалним повећавањем апоптотског сигнала у кратком року и повећањем инфламаторних маркера и хепатотоксичности на дужи рок (389). Јасно је да примена протеина сурутке има своје позитивне протективне ефекте, али да њихова самостална примена без остале разноверсне исхране, посебно у комбинацији са леком као што је оланзапин, може довести до потенцијално хепатотоксичних манифестација на ткиву јетре, али не и оштећења на нивоу јетриних путева и продукције жучи, за шта је очигледно потребно време. С обзиром да се ради о

контролисаном експерименту, јасно је да је за праву процену овог потенцијалног негативног ефекта протеина сурутке потребно спровести истраживања применом избалансираних дијета, где су протеини сурутке њихов саставни део. Краткотрајна примена протеина сурутке очигледно је, има више смисла и јасних предности у односу на монолитну примену на дуже стазе.

5.4. Утицај различитих третмана на промену вредности редокс маркера у плазми пацова

Оксидативна оштећења код психотичких обољења, могу се променити применом лекова из групе антипсихотика уз контрадиктоне чињенице да та промена не мора увек да иде у позитивном смеру, већ постоје докази да поједини лекови могу деловати и изразито прооксидансно (154,155). Психијатријски поремећаји су повезани са гојазношћу и повећаним уносом хране, па је промена начина живота и адекватних хигијенско-дијететских процедура корисна и пожељна. Употреба хране богате протеинима, посебно протеинима сурутке и омега масних киселина у форми додатака исхрани, су логични избор за ову категорију пацијената, како са становишта дијете и сниженог калоријског уноса хране, тако и посматрано из угла њиховог потенцијалног антиоксидативног деловања (265,266). Антиоксидативни капацитет млека и млечних производа углавном је последица аминокиселина које садрже сумпор, попут цистеина, фосфата, витамина А, Е, каротеноида, цинка, селена, ензимских система, супероксид дисмутазе, каталазе, глутатион пероксидазе, олигосахарида и пептида млека, који настају током ферментације и зрења сира (390). Супероксидни радикали, хидроксилни радикали и пероксидни радикали могу бити инхибирани антиоксидативним системима млека, захваљујући аминокиселинама из протеина сурутке (391). Оксидација липида је главни разлог хемијског кварења хране и млечних производа и доводи до стварања спорних промена у хранљивој вредности, укусу и структури хране (392). Антиоксидативна активност протеина сурутке је научно потврђена и антиоксидантни утицај протеина сурутке могу ефикасно инхибирати оксидацију липида (393). Могући механизам настанка антиоксидативне активности протеина сурутке повезује се са утицајем на хелацију прелазних метала лактоферином и уклањања слободних радикала аминокиселинама сурутке које садрже сумпор (394).

Атипични антипсихотици имају мањи потенцијал у развоју штете која је последица оксидативног стреса у односу на резултате добијене после примене типичних као што је халоперидол (395). Оланзапин делује као делимични агониста на D2, D3 и 5HT1a рецепторима и као антагониста 5HT2a рецептора и његово деловање је показано ефикасније у односу на халоперидол (396, 397). Утицај оланзапина на повећану производњу слободних радикала доказан је у великом броју студија, потврђујући тако и резултате овог истраживања. Оланзапин је одговоран за индуковање и покретање механизма у производњи слободних радикала, стварајући основу за настанак штете као последице јаког оксидативног стреса на ткивима и органима у којима се ове манифестације дешавају (177). Позитивни ефеката примене протеина сурутке и омега 3 масних киселина на оксидативни стрес током примене антипсихотичких лекова није много истраживан и подаци су доста штурни, па се на основу овог истраживања може хипотетисати са постојањем потенцијалног заштитног ефекта протеина сурутке током примене оланзапина и успешној контроли његовог про-оксидационог деловања (398). Током истраживања праћене су и анализиране

вредности укупних слободних радикала као и ензимских система антиоксидативне заштите.

Супероксидни анијонски радикал (O_2^- –слободни кисеоник) је најотровнија реактивна врста кисеоника (РОС). Након упоређивања вредности супероксид анијонског радикала између свих група, примећено је да су вредности овог молекула биле у опадајућим вредностима у контролној групи (CTRL), контролној групи са омега киселинама (CTRL+FA), експерименталној групи са омега масним киселинама, као и групи где је комбиновано примењивани протеина сурутке и омега масних киселина (PA+FA).

Највеће вредности су детектоване у групама које су биле под фармаколошким третманом са оланзапином (PD+OLZ) и (PD+OLZ+FA). Третман оланзапином изазива снажно повећање ослобађања супероксидних кисеоничких радикала(CTRL+OLZ), али је видљиво да се ово повећање статистички значајно смањује када се са оланзапином примењују протеини сурутке (PD +OLZ).

Са друге стране заједничка примена протеина сурутке и омега масних киселина са оланзапином (PD+OLZ+FA), доводи до снажног раста вредности супероксидних радикала, па је очигледно да ова заједничка примена није добра и да предност треба дати њиховим одвојеним применама. Изгледно је да њихов раст у овој групи има веза са додавањем протеина с обзиром да је вредност у групи (CTRL+OLZ+ FA), била такође статистички значајно мања у односу на (CTRL+OLZ) и указује на механизам додатног потенцирања оксидативног ефекта од стране протеина и омега масних киселина. Имајући у виду да се у свакодневном животу, ова комбинација често препоручује као изузетно здрава и корисна, њихова истовремена заједничка примена може утицати на раст вредности слободног кисеоничког радикалног јона.

Са друге стране, креирање временске дистанце у узимању ових додатака исхрани може очигледно да доведе до добијања максимума у смањењу остваривања повећања кисеоничких слободних радикала и тиме смањење њихових негативних утицаја.

Водоник пероксидни слободни радикал, H_2O_2 , се понаша другачије, у односу на кисеоничне O_2 радикале. Нема статистички значајних разлика између контролних и експерименталних група третираних оланзапином, а слично као и у случају супероксидних радикала кисеоника, заједничка примена протеина сурутке, омега масних киселина и оланзапина (PD+OLZ+FA) је довела до највећих повећања концентрације пероксидних радикала. Очигледно је да различити режими исхране заједно са оланзапином утичу другачије на различите РОС маркере као и да њихов ефекат није универзалан. Примена протеина сурутке са омега масним киселинама (PD+FA), као и примена омега масних киселина у контролној групи (CTRL+FA) су у односу на контролну групу са оланзапином (CTRL+ OLZ), показале статистички значајно ниже вредности, што указује на јасни антиоксидациони потенцијал омега киселина, али се ова предност у групи (PD+OLZ) и (PD+OLZ+FA) губи додавањем оланзапина. Примена протеина сурутке са оланзапином (PD+OLZ) нема значајног утицаја на вредности водоник пероксидног радикала у односу на контролну групу са оланзапином (CTRL+ OLZ).

Азотни оксид је мерен индиректно путем нитрита и овај молекул се може користити као маркер у процени оксидативног стреса, али његове повећане вредности нису увек специфичне, па се повећања могу евидентирати и код присуства антизапаљенских процеса различите етиологије, као и антиагрегационих или

вазодилататорних активности одређених супстанци или утицаја на ткиво и органе (399). Резултати истраживања указују да је додавање оланзапина у (CTRL+OLZ) групи довело до значајног повећања вредности нитратних радикала у односу на вредности добијене у групи са протеинима сурутке (PD + OLZ), што указује на закључак да додавање протеина може позитивно да утиче на контролу раста ових форми слободних радикала. Међутим, додавање омега 3 масних киселина овој групи (PD+OLZ+FA) је довело до значајног раста нивоа нитратних радикала, слично као и у контролној групи (PD+OLZ+FA). Најниже вредности нитратних радикала су се добијале у експерименталној групи где се користила чиста протеинска исхрана и која је била нешто нижа у односу на контролну групу, али недовољно да би се евидентирала статистичка значајност.

Очигледно је да, слично као и претходним анализама, заједничка примена протеина сурутке и омега 3 масних киселина, нема до краја благотворни ефекат у контроли нивоу нитратних радикала и да је њихова заједничка примена проблематична.

Анализа сва три РОС система указује да је оланзапин изразити прооксидациони лек и да се о овоме често не размишља приликом прописивања лека, чија примена зна да буде доста дуга, по правилу дужа од 6 месеци. Ова чињеница је потврђена, како високом продукцијом слободних радикала, тако и са појачаним процесима пероксидације и последичним оштећењем ћелијских мембрана, видљивим кроз приказ вредности ТБАРС (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). Оланзапин је значајно повећавао његову вредност, док је комбинована суплементација протеина сурутке са оланзапином у групи (PD+OLZ) била једна од најнижих и статистички значајно нижа од вредности у групи (CTRL+OLZ), указујући на значајну протективну и антиоксидантну улогу протеина сурутке у односу на овај показатељ. Сличне вредности су остваривале и контролне групе на протеинима сурутке (PD) и комбинована примена протеина сурутке и омега масних киселина (PD+FA).

Комбинована примена оланзапина са омега масним киселинама, довела је до појаве високих вредности, како у контролној (PD+OLZ+FA), тако и експерименталној групи (CTRL+OLZ+FA). Као и у претходним закључцима, комбинована примена протеина сурутке и омега масних киселина, заједно са оланзапином, подједнако високо доводи до раста ТБАРС параметара, указујући на значајност потенцијалног погоршања оксидативног стреса и погоршања липидне пероксидације услед промене овакве комбинације додатака исхрани. На овај начин се може приметити да су ефекти примењених режима исхране на ТБАРС пратили резултате сличне онима са O₂, H₂O₂ и нитритима, где је евидентно да је њихова изолована посебна примена у различитим временским интервалима боља опција, као и да се може закључити да су промењени протеини сурутке по овом питању потенцијално корисни антиоксидативни додаци у исхрани.

Оксидациони системи имају своју противтежу у ензимским системима антиоксидационе заштите. Сходно наведеној хипотези о појачаном деловању и додатној активацији антиоксидационих ензима заштите, студијско истраживање се бавило и проценама активности ензимских система заштите (СОД- содијум дисмутаза - SOD, КАТ – каталаза - САТ и ГСХ- глутатион синтетаза - GsH).

Каталаза се није значајно променила после третмана са оланзапином. Међутим, видљив је пад њене вредности у протеинској групи са оланзапином и масним киселинама (PD+OLZ+FA). Овај пад се може упоредити у односу на раст оксидационих радикала који су видљиви њиховим мерењем у истој групи, па се на основу оваквих

результата мерења може закључити да су активности ове комбинације везане једним делом и за каталазу, иако посматрајући добијене вредности нису пронађене статистички значајне разлике. Статистички значајна разлика је код каталазе једино видљива између група (CTRL+OLZ) и (PD+OLZ+FA), у корист контролне групе са оланзапином. Очигледно је да комбинација протеина сурутке и омега масних киселина примењена заједно са оланзапином делује негативно на овај антиоксидациони систем заштите, сходно и чињеници да су у овој групи евидентирани и највећи пораст слободних радикала, што указује да постоји могућност негативног утицаја на ензимски систем и да је ове додатке исхрани најбоље примењивати одвојено.

Активност супероксид дисмутазе значајно је смањена после третмана оланзапином и повећана након примене омега масних киселина. У поређењу са (CTRL) групом, СОД је значајно смањена у (CTRL+OLZ), (CTRL+OLZ+FA) и (CTRL+FA), а у поређењу са (PD) групом, овај ензим је промењен у (PD+OLZ) групи у смислу смањења и у групи комбиноване примене протеина сурутке и омега киселина (PD+FA) у смислу повећања. Јасно је да додавање оланзапина утиче негативно на овај антиоксидативни ензимски систем заштите, као и да додавање протеина сурутке или омега масних киселина није довело до значајног раста његове вредности, односно не може се закључити да у овом временском опсегу примене постоје ефекти на јачање њихове протективне вредности током примене са оланзапином.

Концентрација редукованог глутатиона значајно је измењена у смислу добијања највећих сличних вредности ензима у контролној групи (CTRL), контролној групи са омега масним киселинама (CTRL+FA) и протеинској групи са омега киселинама (PD+FA) група. У поређењу са (CTRL) групом, третман оланзапином изазвао је смањење активности овог ензимског система у свим групама третираним оланзапином, па се може закључити да је примена оланзапина заједно са протеинима сурутке самостално или са омега киселинама не може довести у везу са повећањем вредности овог ензима у контролним групама као ни постојањем одређених протективних ефеката ове комбинације. Овај закључак би требао да буде предмет будућих анализа, с обзиром да су одређена испитивања указала да протеини сурутке управо значајно повећавају ниво глутатион-пероксидазе која се сматра једним од најзначајнијих антиоксидативних система растворљивих у води, а који се могу наћи у млеку и протеинима сурутке (400).

У закључку овог дела истраживања, оланзапин има потенцијал да значајно смањи активност антиоксидативних система заштите и на тај начин додатно допринесе развоју оксидативних оштећења на различитим ткивним и ћелијским нивоима (401). Овим испитивањем је то и потврђено, с обзиром на високе вредности повећања слободних кисеоничних и нитратних радикала, високим вредностима ТБАРС-а (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) који указују на постијање високог степена постијања пероксидационих процеса и оштећења мембрана ћелија ткива, као и сниженим вредностима ензима антиоксидационе заштите. Разлика у оствареним ефектима могла би бити последица различитих услова везаних за саме процесе испитивања (временски период примене протеинске исхране, начин и висина дозирања, циљни органи, пол и слично). Ако су механизми антиоксидативног утицаја омега 3 масних киселина добро познати, исти ефекат примене протеина сурутке, може бити повезан са појавом појачане експресије ензима содиум дисмутазе (СОД ензим) и или и осталих ензимских система који могу ефикасније да делују на чишћење и снижавање нивоа слободних радикалних јона (248,249,402).

У закључку овог дела истраживања јасно је да оланзапин поседује снажан оксидациони потенцијал деловања. Студијска испитивања (*Митровић М. и аутора*),

која су била саставни део једне фазе овог истраживања, су потврдили да је третман оланзапином изазвао снажно повећање ослобађања супероксидног H_2O_2 радикала и азот оксида и потврђен је и током овог испитивања (176). Примена протеина сурутке заједно са леком оланзапином, може довести до мање експресије концентрације слободних радикала (кисеонични, нитратни, али не и хидроген пероксидини).

Апсурдно, заједничка примена протеина сурутке и омега масних киселина заједно са оланзапином имала је утицај на раст вредности слободних радикалних јона, што указује на потребу да се њихова примена заједно са оланзапином не може сматрати корисном антиоксидативном заштитом и да треба преферирати њихову раздвојену примену. Као у случају раста вредности радикалних прооксиданса (слободни кисеоник и нитратни радикали) добијени ефекат на содијум дисмутазу, се не може сматрати општим принципом деловања протеина сурутке и омега киселина, већ пре може бити потенцијал ових начина исхране у побољшању деловања на експресију деловања СОД система антиоксидативне заштите. Потенцијали заштите организма од оксидативног стреса, су током истраживања, доказано озбиљно нарушени применом оланзапина.

Обећавајући ефекти заштите приликом самосталне примене протеина сурутке у смислу смањења вредности слободно радикалних јона, ипак требају да буду посматрани и кроз процесе ефекта дуготрајне паралелне примене, заједно са контролисаном уравнотеженом исхраном.

5.5. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА ТКИВА ЈЕТРЕ ПАЦОВА

Експериментални модели на животињама су важни у процени деловања лекова, а модел на глодарима је потврђен као одржив и прихватљив у процени утицаја антипсихотичких лекова на тежину и последичних метаболичких промена и разумевање механизма истих. У експериментима на глодарима описане су метаболичке промене изазване антипсихотицима, посебно повећање телесне тежине, поремећај регулације метаболизма глукозе и измењени липидни профил, са могућношћу развоја не алкохолне масне јетре(99). Студијска истраживања су показала да различити утицај начина примене лека оланзапин може имати различите ефекте на ткива и органе који се анализирају. Примера ради, повећање тежине код пацова је током експерименталног праћења деловања оланзапина, било највеће у узорцима који су користили лек путем осмотске мини пумпе (двоструко већи раст) у односу на субкутани или интраперитонеални начин примене лека (са истом дозом лека као и оној која је коришћена у експеименту од 7,5 мг/кг/тт), где су такође констатовани утицаји на раст тежине (403). Слични резултати негативног утицаја лека оланзапин на развој не алкохолне болести јетре су потврђене и током оралне примене лека код пацова током 12 недељног испитивања, које је иначе и представљало базни модел за поставку овог истраживања (*Soliman et al. 2013*) (355). Раст телесне тежине је одговарао појави масних промена у јетри које указују на присуство не акохолне стеатозе, са појавама дискретне фиброзе ткива. Оланзапин поспешује акумулацију масти у телу пацова, смањењем телесне активности, прерасподелом енергије као и повећањем липогенезе масног ткива, насталу услед оштећења процес липолизе, што се може видети и у развоју патохистолошких промена које потврђују тај негативни утицај лека (404). Резултати потврђују могућности оланзапина да доведе до развоја не алкохолне масне јетре и не алкохолног стеатохепатитиса, који је као већ клинички препознати прогресивни облик болести има потенцијала да напредује до цирозе и хепатоцелуларног карцинома (405,406).

Доста је публикованих радова који покушавају да разјасне механизам развоја токсичности на ткиву јетре и примену оланзапина, али је релативно мали број научних радова који су добијене биохемијске промене анализирали паралелно са анализом патохистолологије ткива органа. Додатна вредност овог истраживања је истовремена анализа добијених биохемијских параметара и хистологије ткива јетре.

У контролним и експерименталним анализираним групама које су биле без примене оланзапина, лобуларна грађа јетре је била очувана, у центру лобулуса се налази лако дилатирана вена од које се према портним просторима пружају углавном једноћелијске ламине хепатоцита и између којих се налазе дискретно дилатирани синусоиди у којима се налазе ретки мононуклеари. Хепатоцити су регуларне цитоморфологије, само местимично су дегенеративно измењени, најчешће са балонирањем лакостепеног градуса 1. Портни простори су местимично лако проширени, углавном нормалне целуларности. Везиво је ретко присутно и то у виду тананих, цртастих нити, локализованих или перицелуларно/перисунусоидално, у зони 3 ацинуса или у портним просторима, без фаворизовања било које групе и било ког типа фиброзе.

Масна промена генерално није присутна.

Врло дискретне разлике су присутне у броју интралобуларно локализованих мононуклеара између контролних (1 и 3) и експерименталних група (5 и 7). Добијени

скор некроинфламаторне активности у распону од 2-2,5, као и стадијума фиброзе од 0,2-0,4 (ближе 0), указују да у прегледаним узорцима јетре нема елемената неалкохолне масне промене односно неалкохолног стеатохепатитиса.

У контролним и екперименталним групама које су третиране оланзапином, јетрин паренхим је у различитом степену био нарушене лобуларне грађе, са израженом конгестијом у виду дилатираних централних вена и синусоида. Масна промена је доминантно микровезикуларна, у различитом обиму захвата лобулусе, најчешће и највише перивенуларну зону 3, у виду богате цитоплазматске вакуолизације хепатоцита. Запаљенски инфилтрат је локализован интралобуларно, у проширеним портним просторима, доминантно је моноклеарног типа, са полиморфонуклеарним ретким леукоцитима и фокалним формирањем грануломатозних агрегата. Балонирајућа дегенерација хепатоцита је у свим групама евидентно присутна и значајног је степена 2.

За разлику од група без оланзапина (1, 3, 5 и 7 групе), у групама са оланзапином (2, 4, 6 и 8) скор некроинфламаторне активности (НИА) је варирао у распону од 5,2 до 6,5 и заједно са стадијумом фиброзе (Ф) од 1,5 до 2,1, микроморфолошки је одговарао постојању неалкохолног стеатохепатитиса.

Фиброза је била присутна у виду краћих и дужих, тањих нити и дебљих влакана, локализована перичелуларно/ перисинусоидално, перивенуларно и перипортно, код око трећинне узорака са портно-портним и портно-венуларним премошћавањем. Стадијум фиброзе је пратио повећање некроинфламаторне активности, указујући на даљу прогресију стања, тако да између свих животиња третираних оланзапином, најизраженије промене су постојале код уобичајено храњених животиња (НИА=6,5; Ф=2,1), а најмање код животиња на протеинској исхрани и супституцији (НИА=5,2; Ф=1,5), што указује на постијање доброг тренда (пад вредности за 20%), недовољног и за постојање статистичке потврде значајности.

Стадијумом фиброзе (Ф) од 1,5 до 2,1, микроморфолошки је одговарао постојању неалкохолног стеатохепатитиса.

Примена оланзапина интраперитонеално у дози од 7,5 мг/кг/тт током трајања експеримента је довела до појаве некроинфламаторних промена на ткиву јетре, које се посматрано микроморфолошки потврђује постојање неалкохолног стеатохепатитиса. Ова појава је пронађена код свих група које су биле фармаколошки третиране оланзапином и примена протеина сурутке самостално или заједно са омега масним киселинама није имала потенцијала да ову појаву превенира, што се види и непостојањем потврде статистичке значајности. Видљиви су трендови када се протеини промењују заједно са омега киселинама, али да ли би дошло до статистичких значајности у корист заштите, могуће је да је потребно дуже временско праћење, очигледно и комплекснија форма дијете која би укључивала разноликост у исхрани, као и анализу заједничког ефекта са контролисаном физичком активношћу.

ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата нашег истраживања и свега претходног наведеног, можемо закључити следеће:

- I. Лек оланзапин, примењен у дози од 7,5 мг/кг/тт интраперитонеално, током 6 недеља примене, доводи до развоја патохистолошких промена на ткиву јетре које указују на појаву не алкохолне масне болести јетре (*НАФЛД*) и манифестног не алкохолног стеатохепатитиса (*НАСХ*). Ове појаве су потврђене патохистолошким анализама, а посредно и евидентирањем високих вредности ензима јетре, пре свега аспартат-аминотрансфераза (*АСТ*) и аланин-аминотрансфераза (*АЛТ*). Овај ефекат се показао евидентним у контролним и експерименталним фармаколошки третираним групама током експеримента.
- II. Пратећи налази који се уобичајено налазе заједно са манифестним патохистолошким променама и растом ензима јетре услед примене оланзапина, потврђени су и уобичајеним, мада не и специфичним налазима, као што су; раст телесне тежине, промене вредности гликемије (које иду ка развоју интолеранције на глукозу и манифестног дијабетеса типа 2), хиперхолестеролемије и које су видљиве у расту укупних вредности у свим контролним групама које су биле фармаколошки третиране.
- III. Ефекат настанка утицаја оланзапина на развој манифестне не алкохолне болести јетре и стеатохепатитиса се објашњава директним деловањем оланзапина као мултипотентног рецепторног лека на рецепторна места у мозгу који имају утицај на контролу ситости и појачаном потребом за узимањем хране и посредним доминантнијим деловањем услед развоја манифестне стеатозе, видљиве патохистолошким анализама, чија последица је и раст ензима јетре у патолошким границама.
- IV. Раст свих фракција холестерола није исти. Осим укупног холестерола који је значајно растао услед утицаја оланзапина, раст ЛДЛ холестерола, триглицерида и ХДЛ холестерола није био статистички значајан и вредности нису биле изнад нивоа референтних вредности, током временски дефинисаног времена праћења у контролним и експерименталним групама које су третиране оланзапином. Овај ефекат се остварује директним утицајем оланзапина на липолизу и пратеће метаболичке процесе посредоване хормонима који регулишу унос хране и ситост, а индиректно повећањем ефекта мултирецепторног деловња самог лека на смањење активности и повећање узимања хране. Може се закључити да је раст вредности холестерола један од првих упозоравајућих знакова негативног деловања оланзапина на метаболичке процесе у организму.
- V. Утицај оланзапина на раст вредности гликемије постоји. Иако овај раст није био изнад референтних вредности карактеристичних за манифестни дијабетес и није био видљив како у контролним, тако и експерименталним групама, остварене вредности гликемије указују да је временски оквир трајања експеримента био довољан да се изазове интолеранција на глукозу са знацима постојања оштећења процеса метаболисања глукозе. Овај раст гликемије би се очигледно наставио даље, па се ово својеврсно стање преддијабетеса такође може посматрати као рани упозоравајући знак негативног утицаја оланзапина ка оштећењу метаболичких процеса у организму.
- VI. Примена оланзапина је довела до значајног раста вредности ензима јетре, пре свега АСТ (*aspartate transaminase*) и АЛТ (*alanine transaminase*), који указују на постојање негативног деловања лека на ћелије јетре вишеструким маханизмима;

директним деловањем, посредованим једним делом и интраперитонеалном применом лека током експеримента, а другим, вероватније и важнијим, снажним и брзим развојем стеатозе јетре, где је услед манифестног запаљења, процеса балониране дегенерације ћелија, дошло до изузетно високог скока вредности ензима АСТ у свим групама, док је ензим АЛТ био у порасту само у контролним. Вредност гама ГТ ензима (*gamma-glutamyltransferase*) и укупног билирубина су биле у границама нормале што указује да су функције секреције жучи и функционисање јетре биле очуване. Добијени резултати указују на постојање елемената развоја токсичног хепатитиса, посредованог утицајем лека.

- VII. Оланзапин је показао да је снажан индуктор оксидативног стреса и генератор раста вредности слободних радикала. Паралелно са растом вредности оксидативних радикалних индикатора стреса, приметан је и негативан утицај на ензимске системе заштите, који услед снажног и очигледно брзог развоја пероксидативних процеса и оштећења мембрана ћелија услед развоја стеатозе, очигледно не могу за тако кратко време да се адаптирају и повећају своју активност заштите, што може довести до акутних оштећења на ћелијама јетре и додатно смањити потенцијале опоравка ткива. Потенцијални допринос овог истраживања се огледа и у резултатима који показују да је примена протеина сурутке са омега масним киселинама и оланзапином, довела до највећег раста слободних радикала и да се очигледни ради о лошем заједничком утицају или негативној конкуренцији. Ови додаци исхрани би требали, очигледно је, да се користе временски одвојено.
- VIII. Примена протеина сурутке у форми додатака исхрани је остварила делимични протективни ефекат на индукцију иницијалних раних симптома карактеристичних за развој не алкохолне масне јетре. То су пре свега позитивни утицаји на раст телесне тежине и вредности укупног холестерола. Остварене вредности су биле статистички значајно ниже у експерименталним групама са оланзапином и протеинима сурутке у односу на контролне групе које су третиране леком. Слични позитивни, статистички значајни ефекти снижавања ових параметара су доказани и током примене оланзапина заједно са протеинима сурутке и омега масним киселинама. Може се закључити да је примена додатака исхрани самостално или у комбинацији, посебно као део комплекснијих и индивидуализованих дијета, посебно са контролисаном физичком активношћу корисна за контролу ових раних дијагностичких показатеља развоја метаболичког синдрома услед примене оланзапина.
- IX. Примена оланзапина са протеинима сурутке или у комбинацији са омега масним киселинама и протеинима је остваривала делимично позитивни и корисни ефекат на контроли раста вредности гликемије у односу на референтне вредности гликемије, иако посматрано статистички, између група није било статистичке значајности. Добијени ефекат на трендове смањења вредности гликемије је такав да су им трендови веома близу нормалним вредностима гликемије, посебно током заједничке примене протеина сурутке и омега масних киселина, за разлику од примене оланзапина у контролној групи са уобичајеним исхраном, која је имала вредности гликемије које су биле на граници манифестног дијабетеса. Добијени резултати указују да слично расту тежине и вредности холестерола, колебања вредности гликемије током примене оланзапина, треба посматрати такође као рани прогностички знак развоја метаболичког синдрома и да је услед нагомилавања масти и појаве не алкохолне масне јетре, раст вредности гликемије такође рани лоши знак могућег оштећења јетре по моделу не алкохолне масне болести. Иако остварени ефекти примене

додатака исхрани на бази протеина сурутке, самостално или у комбинацији са омега масним киселинама нису били довољни да остваре тоталну заштиту и контролу гликемије, евидентно је да се применом дијета које би биле модификоване тако да у себи садрже ове додатке као део дијете, посебно са додацима храни као што су полифеноли, биљна влакна, природни антихолестеролски производи, заједно са контролисаном физичком активношћу може да оствари значајан утицај на контролу процеса оштећења јетре, током терапије са оланзапином.

ЛИТЕРАТУРА

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Mitrović M. Antipsihotici. In: T. Kažić, Lj. Bukarica, S. Dobrić, N. Tasić, M. Mitrović, S Radulović. Gotovi lekovi- priručnik za farmakoterapiju. XV izdanje. Integra, Beograd. 2016. p. 414-422
2. Healy, David (2004). "Explorations in a new world". The creation of psychopharmacology. Harvard University Press. p. 77. ISBN 978-0-674-01599-9. Archived from the original on 8 September 2017. Retrieved 26 November 2013.
3. Lavecchia, A.; Cerchia, C. In silico methods to address polypharmacology: Current status, applications and future perspectives. *Drug Discov. Today* 2016, 21, 288–298.
4. Korcsmáros, T.; Szalay, M.S.; Böde, C.; Kovács, I.A.; Csermely, P. How to design multi-target drugs. *Expert Opin. Drug Discov.* 2007, 2, 799–808.
5. Nikolic, K.; Mavridis, L.; Djikic, T.; Vucicevic, J.; Agbaba, D.; Yelekci, K.; Mitchell, J.B.O. Drug Design for CNS Diseases: Polypharmacological Profiling of Compounds Using Cheminformatics, 3D-QSAR and Virtual Screening Methodologies. *Front. Neurosci.* 2016, 10, 265.
6. A. Mckean, E. Monasterio, Indications of atypical antipsychotics in the elderly, *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 8 (2015) 5–7.
7. IMS baza. Srbija. 2019 godina
8. IMS baza Srbija. 2019 godina. Potrošnja olanzapina
9. Bakhshi, K.; Chance, S.A. The neuropathology of schizophrenia: A selective review of past studies and emerging themes in brain structure and cytoarchitecture. *Neuroscience* 2015, 303, 82–102
10. Доступно на: <https://www.gu.se/en/research/arvid-carlsson-the-2000-nobel-laureate-in-medicine>
11. Lau, C.-I.; Wang, H.-C.; Hsu, J.-L.; Liu, M.-E. Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? *Rev. Neurosci.* 2013, 24, 389–400. [CrossRef] [PubMed]
12. Hu, W.; MacDonald, M.L.; Elswick, D.E.; Sweet, R.A. The glutamate hypothesis of schizophrenia: Evidence from human brain tissue studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2015, 1338, 38–57. [CrossRef] [PubMed]
13. Meltzer, H.Y.; Nash, J.F. Effects of antipsychotic drugs on serotonin receptors. *Pharmacol. Rev.* 1991, 43, 587–604
14. Schmidt, C.J.; Sorensen, S.M.; Kehne, J.H.; Carr, A.A.; Palfreyman, M.G. The role of 5-HT_{2A} receptors in antipsychotic activity. *Life Sci.* 1995,
15. Meltzer, H.Y.; Li, Z.; Kaneda, Y.; Ichikawa, J. Serotonin receptors: Their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2003, 27, 1159–1172
16. Millan, M.J. Improving the treatment of schizophrenia: Focus on serotonin 5-HT_{1A} receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000, 295, 853–861
17. Akimova, E.; Lanzenberger, R.; Kasper, S. The serotonin-1A receptor in anxiety disorders. *Biol. Psychiatry* 2009, 66, 627–635
18. Ogren, S.O.; Eriksson, T.M.; Elvander-Tottie, E.; D'Addario, C.; Ekström, J.C.; Svenningsson, P.; Meister, B.; Kehr, J.; Stiedl, O. The role of 5-HT_{1A} receptors in learning and memory. *Behav. Brain Res.* 2008, 195, 54–77
19. Maletic, V.; Eramo, A.; Gwin, K.; Offord, S.J.; Duffy, R.A. The Role of Norepinephrine and Its α -Adrenergic Receptors in the Pathophysiology and

- Treatment of Major Depressive Disorder and Schizophrenia: A Systematic Review. *Front. Psychiatry* 2017, 8, 4
20. Brosda, J.; Jantschak, F.; Pertz, H.H. α 2-Adrenoceptors are targets for antipsychotic drugs. *Psychopharmacology* 2014, 231, 801–812
 21. Marcus, M.M.; Wiker, C.; Frånberg, O.; Konradsson-Geuken, A.; Langlois, X.; Jardemark, K.; Svensson, T.H. Adjunctive α 2-adrenoceptor blockade enhances the antipsychotic-like effect of risperidone and facilitates cortical dopaminergic and glutamatergic, NMDA receptor-mediated transmission. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2010, 13, 891–903.
 22. He, M.; Deng, C.; Huang, X.-F. The role of hypothalamic H1 receptor antagonism in antipsychotic-induced weight gain. *CNS Drugs* 2013, 27, 423–434
 23. Sadek, B.; Saad, A.; Sadeq, A.; Jalal, F.; Stark, H. Histamine H3 receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. *Behav. Brain Res.* 2016, 312, 415–430.
 24. Dean, B.; Scarr, E. Possible involvement of muscarinic receptors in psychiatric disorders: A focus on schizophrenia and mood disorders. *Curr. Mol. Med.* 2015, 15, 253–26
 25. Raedler, T.J.; Bymaster, F.P.; Tandon, R.; Copolov, D.; Dean, B. Towards a muscarinic hypothesis of schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 2007, 12, 232–246
 26. Ghoshal, A.; Rook, J.M.; Dickerson, J.W.; Roop, G.N.; Morrison, R.D.; Jalan-Sakrikar, N.; Lamsal, A.; Noetzel, M.J.; Poslusney, M.S.; Wood, M.R.; et al. Potentiation of M1 Muscarinic Receptor Reverses Plasticity Deficits and Negative and Cognitive Symptoms in a Schizophrenia Mouse Model. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 2016, 41, 598–610
 27. Raedler, T.J.; Knable, M.B.; Jones, D.W.; Urbina, R.A.; Gorey, J.G.; Lee, K.S.; Egan, M.F.; Coppola, R.; Weinberger, D.R. In vivo determination of muscarinic acetylcholine receptor availability in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 2003, 160, 118–127
 28. Freeman, T.P.; Stone, J.M.; Orgaz, B.; Noronha, L.A.; Minchin, S.L.; Curran, H.V. Tobacco smoking in schizophrenia: Investigating the role of incentive salience. *Psychol. Med.* 2014, 44, 2189–2197
 29. Neves, G.A.; Grace, A.A. α 7 Nicotinic receptor-modulating agents reverse the hyperdopaminergic tone in the MAM model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 2018, 43, 1712–1720
 30. Paoletti, P.; Neyton, J. NMDA receptor subunits: Function and pharmacology. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007, 7, 39–47
 31. Saleem, S.; Shaukat, F.; Gul, A.; Arooj, M.; Malik, A. Potential role of amino acids in pathogenesis of schizophrenia. *Int. J. Health Sci. (Quassim)* 2017, 11, 63–68
 32. Stone, J.M.; Morrison, P.D.; Pilowsky, L.S. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia—A synthesis and selective review. *J. Psychopharmacol. Oxf. Engl.* 2007, 21, 440–452.
 33. Magda Kondej, Piotr Stepnicki and Agnieszka A. Kaczor. Multi-Target Approach for Drug Discovery against Schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 3105; doi:10.3390/ijms19103105
 34. Richard B. Mailman, Vishakantha Murthy. Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? *Curr Pharm Des.* 2010; 16(5): 488–501.

35. Stephen Stahl. *Stahls Essential Psychopharmacology*. Cambridge University Press 2013.
36. Enger C et al. Serious cardiovascular events and mortality among patients with schizophrenia. *J Nerv Ment Dis*, 2004. 192:19–27.
37. McEvoy JP et al. 2005. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with schizophrenia: Baseline results from the Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) schizophrenia trial and comparison with national estimates from NHANES III. *Schizophr Res*, 80: 19–3
38. Leucht S, Cipriani A, Spineli L, et al. Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: a multiple-treatments meta-analysis. *Lancet*. 2013;382(9896):951–962.
39. Stockton ME, Rasmussen K. Electrophysiological effects of olanzapine, a novel atypical antipsychotic, on A9 and A10 dopamine neurons. *Neuropsychopharmacology*.1996;14:97-104.
40. D. Vancampfort, K. Vansteelandt, C.U. Correll, A.J. Mitchell, A. De Herdt, P. Sienaert, M. Probst, M. De Hert, Metabolic syndrome and metabolic abnormalities in bipolar disorder: a meta-analysis of prevalence rates and moderators, *Am. J. Psychiatry* 170 (2013) 265–274
41. Bymaster F, Perry KW, Nelson DL, Wong DT, Rasmussen K, Moore NA, et al. Olanzapine: a basic science update. *Br J Psychiatry*. 1999;37:36-40.
42. F.C. Cohen, Entry order as a consideration for innovation strategies, *Nat. Rev. Drug Discovery* (2006).
43. M. Leonhauser, 2012. Antipsychotics: multiple indications help drive growth. *Pm 360 market watch: the essential source for pharma marketers*, 1, 22–24.
44. Callaghan JT, Bergstrom RF, Ptak LR, Beasley CM. Olanzapine: pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet*. 1999;37:177-93
45. SmPC Olanzapin. SIZAP. Alkaloid Skoplje. Alims 2020
46. Frampton JE. Olanzapine long-acting injection. A review of its use in the treatment of schizophrenia. *Drugs*. 2010;70:2289-313
47. M.C. Mauri,*, S. Paletta, M. Maffini, A. Colasanti, F. Dragogna, C. Di Pace, and A.C. Altamura. Clinical pharmacology of atypical antipsychotics: an update. *EXCLI J*. 2014; 13: 1163–1191.
48. Kapur S, Zipursky RB, Remington G, Jones C, DaSilva J, Wilson AA, Houle S. 5-HT₂ and D₂ receptor occupancy of olanzapine in schizophrenia: a PET investigation. *Am J Psychiatry*. 1998 Jul; 155(7):921-
49. Baumann P, Hiemke C, Ulrich S, Eckermann G, Gaertner I, Gerlach M, et al. The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Pharmacopsychiatry*. 2004;37:243–265.
50. Stephen Stahl. *Olanzapine*. *Stahls Essential Psychopharmacology*. Cambridge University Press 2013.182-183
51. Lindenmayer JP. Long-acting injectable antipsychotics: focus on olanzapine pamoate. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2010 Jun 24; 6():261-7.
52. Lindborg SR, Beasley CM, Alaka K, Taylor CC. Effects of intramuscular olanzapine vs. haloperidol and placebo on QTc intervals in acutely agitated patients. *Psychiatry Res*. 2003;15;119:113-23.
53. Onzapin. SmPC. <https://www.alims.gov.rs/ciril/files/lekovi/smpc/515-01-04300-14-001.pdf>. Alims 2020
54. Zyprexa. SPC. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zyprexa-epar-product-information_en.pdf

55. ZYPADHERA 210 mg, 300 mg, and 405 mg, powder and solvent for prolonged release suspension for injection. Dostupno na <https://www.medicines.org.uk/emc/product/6429/smpc#>
56. Wright P, Lindborg SR, Birkett M, Meehan K, Jones B, Alaka K et al. Intramuscular olanzapine and intramuscular haloperidol in acute schizophrenia: antipsychotic efficacy and extrapyramidal safety during the first 24 hours of treatment. *Can J Psychiatry*. 2003 Dec; 48(11):716-21.
57. Breier A, Meehan K, Birkett M, David S, Ferchland I, Sutton V et al. A double-blind, placebo-controlled dose-response comparison of intramuscular olanzapine and haloperidol in the treatment of acute agitation in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2002 May; 59(5):441-8.
58. Сажетак употребе лека. Интеракције.ТРЕАНА Хемофарм. АЛИМС 2020
59. Сажетак употребе лека. Мере опреза приликом кортишења лека. Треана. Хемофарм. АЛИМС 2020
60. Сажетак употребе лека. Нежељена дејства.ТРЕАНА Хемофарм. АЛИМС 2020
61. ALIMS. Доступно на: <https://www.alims.gov.rs/ciril/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/?id=408500>
62. Stephenson, C.M.; Pilowsky, L.S. Psychopharmacology of olanzapine. A review.*Br. J. Psychiatry Suppl*.1999,38, 52–58.
63. Amani, R. Is Dietary Pattern of Schizophrenia Patients Different from Healthy Subjects? *BMC Psychiatry* 2007, 7, 15
64. Roick, C.et al. Health Habits of Patients with Schizophrenia. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol*. 2007, 42, 268–276.
65. Simonelli-Muñoz, A.J.et al. Dietary Habits of Patients with Schizophrenia: A Self-Reported Questionnaire Survey. *Int. J. Ment. Health Nurs*. 2012, 21, 220–228.
66. Iglesias-García, C. et al. Dietary habits of a sample of patients with schizophrenia. *Rev. Psiquiatr Salud Ment*. 2016, 9, 123–125.
67. Küçükerdönmez, Ö.et al. Assessment of the Relationship between Food Addiction and Nutritional Status in Schizophrenic Patients. *Nutr. Neurosci*. 2019, 22, 392–400
68. Daniel E. Casey, MD. Metabolic issues and cardiovascular disease in patients with psychiatric disorders. Department of Psychiatry, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA. *American Journal of medicine* (2005) Vol 118, Suppl 2, 15s-22s
69. D Hert M et al. Metabolic and Cardiovaslular adverse effects associated with antipsychotic drugs. *Nat Rev Endocrinol*. 2011; 8(2) 114-26.
70. Brown S. Excess mortality of schizophrenia: a metaanalysis. *Br J Psychiatry* 1997; 171:502–508.
71. Ray WA, Chung CP, Murray KT, et al. Atypical antipsychotic drugs and the risk of sudden cardiac death. *N Engl J Med* 2009; 360:225–235
72. Newcomer JW, Hennekens CH. Severe mental illness and risk of cardiovascular disease. *JAMA* 2007; 298:1794–1796.
73. Newcomer JW. Antipsychotic medications: metabolic and cardiovascular risk. *J Clin Psychiatry* 2007; 68 (Suppl 4):8–13.
74. Halpert S, McFarlane SI. When the heart and the mind collide: cardiovascular risk factors and antipsychotic use in the schizophrenic population. *J Cardiometab Syndr* 2009; 4:1–5. 68 (Suppl 4):8–13.
75. Leonel E. Rojoa et al. Metabolic syndrome and obesity among users of second generation antipsychotics: A global challenge for modern psychopharmacology. *Pharmacological Research* 101 (2015) 74–85

76. P.A. Gaspar, C. Bosman, S. Ruiz, F. Aboitiz, 2009. The aberrant connectivity hypothesis in schizophrenia.
77. P.A. Gaspar, M.L. Bustamante, L.E. Rojo, A. Martinez, From glutamatergic dysfunction to cognitive impairment: boundaries in the therapeutic of the schizophrenia, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 13 (2012) 1543–1548.
78. Krahn GL. WHO World Report on Disability: a review. *Disabil Health J* 2011; 4: 141–142
79. Pini S, De Queiroz V, Pagnin D, et al. Prevalence and burden of bipolar disorders in European countries. *Eur Neuropsychopharmacol* 2005; 15: 425–434.
80. Tobias A. Rowland, Steven Marwaha. Epidemiology and risk factors for bipolar disorder. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2018 Sep; 8(9): 251–269.
81. Selim K, Kaplowitz N. Hepatotoxicity of psychotropic drugs. *Hepatology.* 1999;29(5):1347–51. doi: 10.1002/hep.510290535. [PubMed: 10216114].
82. Raedler TJ. Cardiovascular aspects of antipsychotics. *Curr Opin Psychiatry.* 2010;23(6):574-81.
83. Panariello F, De Luca V, de Bartolomeis A. Weight gain, schizophrenia and antipsychotics: new findings from animal model and pharmacogenomic studies. *Schizophr Res Treat.* 2011;2011:459284.
84. Kroeze WK, Hufeisen SJ, Popadak BA, et al. H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. *Neuropsychopharmacology.* 2003;28(3):519–26
85. Huang XF, Han M, Huang X, et al. Olanzapine differentially affects 5-HT_{2A} and 2C receptor mRNA expression in the rat brain. *Behav Brain Res.* 2006;171:355–62.
86. Baptista T, Parada M, Hernandez L. Long term administration of some antipsychotic drugs increases body weight and feeding in rats: are D₂ dopamine receptors involved? *Pharmacol Biochem Behav.* 1987;27(3):399–405
87. Matsui-Sakata A, Ohtani H, Sawada Y. Receptor occupancy based analysis of the contributions of various receptors to antipsychotics-induced weight gain and diabetes mellitus. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005;20(5):368–78
88. Jin H, Meyer JM, Mudaliar S, et al. Impact of atypical antipsychotic therapy on leptin, ghrelin, and adiponectin. *Schizophr Res.* 2008;100(1–3):70–85.
89. Reynolds GP, Hill MJ, Kirk SL. The 5-HT_{2C} receptor and antipsychotic induced weight gain: mechanisms and genetics. *J Psychopharmacol.* 2006;20(4 Suppl.):15–8.
90. Ban Winkel R, Rutten BP, Peerbooms O, et al. MTHFR and risk of metabolic syndrome in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2010;121(1–3):193–8
91. Hong CJ, Liou YJ, Bai YM, et al. Dopamine receptor D₂ gene is associated with weight gain in schizophrenic patients under longterm atypical antipsychotic treatment. *Pharmacogenet Genomics.* 2010;20(6):359–66.
92. Murphy MB. Dopamine: a role in the pathogenesis and treatment of hypertension. *J Hum Hypertens.* 2000;14(Suppl. 1):S47–50
93. Mannelli M, Ianni L, Lazzeri C, et al. In vivo evidence that endogenous dopamine modulates sympathetic activity in man. *Hypertension.* 1999;34(3):398–402.
94. Kok P, Roelfsema F, Frolich M, et al. Activation of dopamine D₂ receptors simultaneously ameliorates various metabolic features of obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291: E1038–43.
95. American Diabetes Association, American Psychiatric Association, American Association of Clinical Endocrinologists, North American Association for the

- Study of Obesity. Consensus development conference on antipsychotic drugs and obesity and diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(2):596–601.
96. Komossa K et al . Olanzapine versus other atypical antipsychotics for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(3):CD006654.
 97. Rummel-Kluge C, et al . Head-to-head comparisons of metabolic side effects of second generation antipsychotics in the treatment of schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia* 2010;123(2–3):225–33
 98. Cooper GD, Pickavance LC, Wilding JP, Harrold JA, Halford JC, Goudie AJ. Effects of olanzapine in male rats: enhanced adiposity in the absence of hyperphagia, weight gain or metabolic abnormalities. *J Psychopharmacol*. 2007;21:405–413. doi:10.1177/0269881106069637
 99. Boyda HN, Tse L, Procyshyn RM, Honer WG, Barr AM. Preclinical models of antipsychotic drug-induced metabolic side effects. *Trends Pharmacol Sci*. 2010;31:484–497. doi:10.1016/j.tips.2010.07.002
 100. Chintoh AF, Mann SW, Lam L, et al. Insulin resistance and decreased glucose-stimulated insulin secretion after acute olanzapine administration. *J Clin Psychopharmacol*. 2008;28:494–499.
 101. Wu, C. et al. An evaluation of the effects of the novel antipsychotic drug lurasidone on glucose tolerance and insulin resistance: a comparison with olanzapine. *PLoS one* 9, e107116 (2014).
 102. Huqun Li, shiyong pen2, shihong Li1, shouqing Liu, Yifan Lv, Ni Yang, Liangyu Yu, Ya-Hui Deng, Zhongjian Zhang, Maosheng Fang, Yunxiang Huo, Ying Chen5, taohua sun & Weiyong Li. Chronic olanzapine administration causes metabolic syndrome through inflammatory cytokines in rodent models of insulin resistance. *Scientific RepoRts* (2019) 9:1582 | <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36930-y>
 103. Galling B, Roldán A, Nielsen RE, et al. Type 2 diabetes mellitus in youth exposed to antipsychotics: a systematic review and metaanalysis. *JAMA Psychiatry*. 2016;73:247–259. doi:10.1001/jamapsychiatry.2015.2923
 104. Yang Z, Yin JY, Gong ZC, et al. Evidence for an effect of clozapine on the regulation of fat-cell derived factors. *Clin Chim Acta*. 2009;408:98–104. doi:10.1016/j.cca.2009.07.021
 105. Minet-Ringuet J, Even PC, Valet P, et al. Alterations of lipid metabolism and gene expression in rat adipocytes during chronic olanzapine treatment. *Mol Psychiatry*. 2007;12:562–571. doi:10.1038/sj.mp.4001948
 106. Davis H, Attia E. Pharmacotherapy of eating disorders. *Curr Opin Psychiatry*. 2017; doi: 10.1097/YCO
 107. Lord CC, Wyler SC, Wan R, Castorena CM, Ahmed N, Mathew D, Lee S, Liu C, Elmquist JK. The atypical antipsychotic olanzapine causes weight gain by targeting serotonin receptor 2C. *J Clin Invest*. 2017. pii: 93362. doi: 10.1172/JCI93362
 108. Bymaster FP, et al. Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacology*. 1996;14(2):87–96.
 109. Ryan MC, Collins P, Thakore JH. Impaired fasting glucose tolerance in first-episode, drug-naive patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003;160(2):284–9.
 110. De Hert M, Detraux J, van Winkel R, et al. Metabolic and cardiovascular adverse effects associated with antipsychotic drugs. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;8:114–26.

111. Miyamoto S, Duncan GE, Marx CE, Lieberman JA. Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Molecular Psychiatry*. 2005;10:79–104.
112. Miroslav Mitrovic , Tamara Nikolic 2 Marko Turnic , Dusan Djuric. Olanzapine, focus on the cardiometabolic side effects. *Ser J Exp Clin Res* 2017; 1-1. DOI: 10.1515/SJECR. 2017. 0054
113. SPC. Sizap. Alkaloid Skopje. ALIMS 2020
114. Himmerich H, Minkwitz J, Kirkby KC. Weight Gain and Metabolic Changes During Treatment with Antipsychotics and Antidepressants. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015;15(4):252-60
115. Datta SS, Kumar A, Wright SD, Furtado VA, Russell PS. Evidence base for using atypical antipsychotics for psychosis in adolescents. *Schizophr Bull*. 2014;40(2):252-4.
116. Lett TA, Wallace TJ, Chowdhury NI, Tiwari AK, Kennedy JL, Müller DJ. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain: review and clinical implications. *Mol Psychiatry*. 2012;17(3):242–266. 21..
117. Fang F, Wang Z, Wu R, Calabrese JR, Gao K. Is there a ‘weight neutral’ second-generation antipsychotic for bipolar disorder? *Expert Rev Neurother*. 2017;17(4):407-418
118. Bartoli F, Lax A, Crocarno C, Clerici M, Carrà G. Plasma adiponectin levels in schizophrenia and role of second-generation antipsychotics: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;56:179-89. 26. Hirsch L,
119. Yang J, Bresee L, Jette N, Patten S, Pringsheim T. Second-Generation Antipsychotics and Metabolic Side Effects: A Systematic Review of Population-Based Studies. *Drug Saf*. 2017; doi: 10.1007/s40264-017-0543-0.
120. Allison D, Mentore J, Heo M, Chandler L, Cappelleri J, Infante M, et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry*. 1999;156(11):1686–96.
121. Сажетак карактеристика лека. АЛИМС. Хемофарм. 2019
122. Ebdrup BH1, Knop FK, Madsen A, Mortensen HB, Søgaard B, Holst JJ, Szecsi PB, Lublin H. Glucometabolic hormones and cardiovascular risk markers in antipsychotic-treated patients. *J Clin Psychiatry*. 2014 Sep;75(9):e899-905. doi: 10.4088/JCP.13m08820.
123. Teff KL, et al . Antipsychotic-induced insulin resistance and postprandial hormonal dysregulation independent of weight gain or psychiatric disease. *Diabetes* 2013;62(9):3232–40.
124. Weston-Green K, et al . Second generation antipsychotic-induced type 2 diabetes: a role for the muscarinic M3 receptor. *CNS Drugs* 2013;27(12): 1069–80.
125. Kimberley R Boyle, James G Boyle MD, Gerry McKay. Miles Fisher. Olanzapine. *PRACTICAL DIABETES VOL. 31 NO. 7*. 2014
126. Newcomer JW. Second-generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects: a comprehensive literature review. *CNS Drugs*. 2005;19(suppl 1):1-93.
127. Lindenmayer JP, Czobor P, Volavka J, et al. Changes in glucose and cholesterol levels in patients with schizophrenia treated with typical or atypical antipsychotics. *Am J Psychiatry*. 2003;160(2): 290-296.
128. Bettinger TL, Mendelson SC, Dorson PG, Crismon ML: Olanzapine-induced glucose dysregulation. *Ann Pharmacother* 2000; 34:865-867 Crossref, Medline, Google Scholar
129. Ulcickas Yood M1, Delorenze GN, Quesenberry CP Jr, Oliveria SA, Tsai AL, Kim E, Cziraky MJ, McQuade RD, Newcomer JW, L'italien GJ. Association

- between second-generation antipsychotics and newly diagnosed treated diabetes mellitus: does the effect differ by dose? *BMC Psychiatry*. 2011 Dec 15;11:197. doi: 10.1186/1471-244X-11-197.
130. Houseknecht KL, Robertson AS, Zavadoski W, Gibbs EM, Johnson DE, Rollema H. Acute effects of atypical antipsychotics on whole-body insulin resistance in rats: implications for adverse metabolic effects. *Neuropsychopharmacology* 2007;32:289–297
 131. Coll AP, Yeo GS, Farooqi IS, O’Rahilly S. SnapShot: the hormonal control of food intake. *Cell* 2008;135:572
 132. Paulo J.F. Martins, Michael Haas, and Silvana Obici. Central Nervous System Delivery of the Antipsychotic Olanzapine Induces Hepatic Insulin Resistance. *DIABETES, VOL. 59, OCTOBER 2010*
 133. Candice M. Klingerman Michelle E. Stipanovic, Andras Hajnal, and Christopher J. Lynch. Acute Metabolic Effects of Olanzapine Depend on Dose and Injection Site. *Dose-Response: An International Journal*. 2015:1-8
 134. Boyda HN, Procyshyn RM, Tse L, et al. Intermittent treatment with olanzapine causes sensitization of the metabolic side-effects in rats. *Neuropharmacology*. 2012;62(3):1391-1400.
 135. Boyda HN, Procyshyn RM, Tse L, et al. Differential effects of 3 classes of antidiabetic drugs on olanzapine-induced glucose dysregulation and insulin resistance in female rats. *J Psychiatry Neurosci*. 2012;37(6):407-415.
 136. Albaugh VL, Singareddy R, Mauger D, Lynch CJ. A double blind, placebo-controlled, randomized crossover study of the acute metabolic effects of olanzapine in healthy volunteers. *PLoS One*. 2011;6(8):e22662.
 137. Hideaki Katagiri¹ Masanori Taketsuna² shinpei Kondo³ Kenta Kajimoto⁴ etsuko aoi⁵ Yuka Tanji¹. safety and effectiveness of rapid-acting intramuscular olanzapine for agitation associated with schizophrenia – Japan postmarketing surveillance study. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2018:14submit
 138. Kessing LV, Thomsen AF, Mogensen UB, Andersen PK. Treatment with antipsychotics and the risk of diabetes in clinical practice. *Br J Psychiatry*. 2010;197(4):266–271.
 139. Lambert BL, Cunningham FE, Miller DR, Dalack GW, Hur K. Diabetes risk associated with use of olanzapine, quetiapine, and risperidone in veterans health administration patients with schizophrenia. *Am J Epidemiol*. 2006;164 (7):672–681.
 140. Miranda PJ, DeFronzo RA, Califf RM, et al. Metabolic syndrome: definition, pathophysiology, and mechanisms. *Am Heart J*. 2005;149(1):33–45.
 141. What is metabolic Syndrome? American heart association. 2015 available on heart.org/answersbyheart
 142. Osby U, Correia N, Brandt L, et al. Mortality and causes of death in schizophrenia in Stockholm County, Sweden. *Schizophr Res*. 2000;45(1–2):21–8.
 143. Youssef NA, Abdelmalek MF, Binks M, Guy CD, Omenetti A, Smith AD, et al. Associations of depression, anxiety and antidepressants with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2013;33(7):1062–70. doi: 10.1111/liv.12165. [PubMed: 23560860].
 144. Fuller M, Shermock K, Secic M, Grogg A. Comparative study of the development of type 2 diabetes in patients taking risperidone and olanzapine. *Pharmacotherapy*. 2003;23(8):1037–43.
 145. Werner FM, Covenas R. Safety of antipsychotic drugs: focus on therapeutic and adverse effects. *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13(8):1031–42.

146. Lauriello J, Lambert T, Andersen S, et al. An 8-week, doubleblind, randomized, placebo-controlled study of olanzapine longacting injection in acutely ill patients with schizophrenia. *J Clin Psychiatry*. 2008;69:790-799.
147. Dixon L, Perkins D, Calmes C. American Psychiatric Association guideline watch (September 2009): practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia. 2009. [http:// psychiatryonline.org](http://psychiatryonline.org). Accessed 17 Aug 2017.
148. De Hert M, Guiraud-Diawara A, Marre C. Comparison of metabolic syndrome incidence among schizophrenia patients treated with asenapine versus olanzapine [abstract no. 2584]. *Eur Psychiatry*. 2013;28(Suppl 1).
149. Simpson GM, Weiden P, Pigott T, et al. Six-month, blinded, multicenter continuation study of ziprasidone versus olanzapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2005;162:1535-1538.
150. Zhang Q, Deng C, Huang XF. The role of ghrelin signalling in second-generation antipsychotic-induced weight gain. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(11):2423-38.
151. Aguilar E, Coronas R, Caixàs A. [Metabolic syndrome in patients with schizophrenia and antipsychotic treatment]. *Med Clin (Barc)*. 2012;139(12):542-6.
152. Olfson M, Marcus SC, Corey-Lisle P, et al. Hyperlipidemia following treatment with antipsychotic medications. *Am J Psychiatry* 2006; 163:1821–1825.
153. Yamin Zhang, PhD; Qiang Wang, MD; Gavin P. Reynolds, PhD; Weihua Yue, MD, PhD; Wei Deng et al. Metabolic Effects of 7 Antipsychotics on Patients With Schizophrenia: A Short-Term, Randomized, Open-Label, Multicenter, Pharmacologic Trial. *J Clin Psychiatry* 2020;81(3):19m12785. <https://doi.org/10.4088/JCP.19m12785>
154. Yao JK, Leonard S, Reddy RD (2000) Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res* 42:7–17. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(99\)00095-X](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(99)00095-X)
155. Sagara Y (1998) Induction of reactive oxygen species in neurons by haloperidol. *J Neurochem* 71:1002–1012. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71031002.x>
156. Eftekhari A, Azarmi Y, Parvizpur A, Eghbal MA (2016) Involvement of oxidative stress and mitochondrial/lysosomal crosstalk in olanzapine cytotoxicity in freshly isolated rat hepatocytes. *Xenobiotica* 46:369–378. <https://doi.org/10.3109/00498254.2015.1078522>
157. Flatow J, Buckley P, Miller BJ. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2013;74(6):400–9.
158. Tanaka S, Matsunaga H, Kimura M, Tatsumi K, Hidaka Y, Takano T, et al. Autoantibodies against four kinds of neurotransmitter receptors in psychiatric disorders. *J Neuroimmunol*. 2003;141(1–2):155–64.
159. Eaton WW, Pedersen MG, Nielsen PR, Mortensen PB. Autoimmune diseases, bipolar disorder, and non-affective psychosis. *Bipolar Disord*. 2010;12(6):638–46
160. Laan W, Grobbee DE, Selten JP, Heijnen CJ, Kahn RS, Burger H. Adjuvant aspirin therapy reduces symptoms of schizophrenia spectrum disorders: results from a randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 2010;71(5):520
161. Prasad KM, Eack SM, Keshavan MS, Yolken RH, Iyengar S, Nimgaonkar VL. Antiherpes virus-specific treatment and cognition in schizophrenia: A test-of-

- concept randomized double- blind placebo-controlled trial. *Schizophr Bull.* 2013;39(4):857–66
162. Brenner K, Liu A, Laplante DP, Lupien S, Pruessner JC, Ciampi A, et al. Cortisol response to a psychosocial stressor in schizophrenia: blunted, delayed, or normal? *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(6):859–68.
 163. Pai BN, Janakiramaiah N, Gangadhar BN, Ravindranath V (1994) Depletion of glutathione and enhanced lipid peroxidation in the CSF of acute psychotics following haloperidol administration. *Biol Psychiatry* 36:489–491.
 164. Padurariu M., Ciobica A., Hritcu L., Stoica B., Bild W., Stefanescu C. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 2010;469:6–10.
 165. Kriisa K., Haring L., Vasar E., Koido K., Janno S., Vasar V., Zilmer K., Zilmer M. Antipsychotic treatment reduces indices of oxidative stress in first-episode psychosis patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016;2016:1–7
 166. Dakhale G., Khanzode S., Khanzode S., Saoji A., Khobragade L., Turankar A. Oxidative damage and schizophrenia: The potential benefit by atypical antipsychotics. *Neuropsychobiology.* 2004;49:205–209.
 167. Sadowska-Bartosz I., Galiniak S., Bartosz G., Zuberek M., Grzelak A., Dietrich-Muszalska A. Antioxidant properties of atypical antipsychotic drugs used in the treatment of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2016;176:245–251
 168. Jin-hong Han, Hong-zhao Tian, Yang-yang Lian, Yi Yu, Cheng-biao Lu, Xin-min Li, Rui-ling Zhang and Haiyun Xu. Quetiapine mitigates the ethanol-induced oxidative stress in brain tissue, but not in the liver, of the rat. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015; 11: 1473–1482.
 169. Bhana N, Foster RH, Olney R, Plosker GL (2001) Olanzapine: an updated review of its use in the management of schizophrenia. *Drugs* 61:111–161. <https://doi.org/10.2165/00003495-200161010-00011>
 170. Hirsch L, Yang J, Bresee L, Jette N, Patten S, Pringsheim T (2017) Second-generation antipsychotics and metabolic side effects: a systematic review of population-based studies. *Drug Saf* 40:771– 781. <https://doi.org/10.1007/s40264-017-0543-0>
 171. Blakely R.D., Wages S.A., Justice J.B., Herndon J.G., Neill D.B. Neuroleptics increase striatal catecholamine metabolites but not ascorbic acid in dialyzed perfusate. *Brain Res.* 1984;308:1–8
 172. Dietrich-Muszalska A., Kolińska-Lukaszuk J. Comparative effects of aripiprazole and selected antipsychotic drugs on lipid peroxidation in plasma. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2018;72:329–336.
 173. Wei Z., Bai O., Richardson J.S., Mousseau D.D., Li X.-M. Olanzapine protects PC12 cells from oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *J. Neurosci. Res.* 2003;73:364–368.
 174. Katagiri H, Taketsuna M, Kondo S, Kajimoto K, Aoi E, Tanji Y. Effectiveness and safety of oral olanzapine treatment transitioned from rapid-acting intramuscular olanzapine for agitation associated with schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018;14:1083–1091. Published 2018 Apr 23. doi:10.2147/NDT.S158339
 175. Ondo WG, Levy JK, Vuong KD, Hunter C, Jankovic J. Olanzapine treatment for dopaminergic-induced hallucinations. *Mov Disord.* 2002 Sep;17(5):1031-5. PubMed PMID: 12360554.
 176. Miroslav Mitrovic, Tamara Nikolic Turnic, Vladimir Zivkovic, Zarko Pavic, Aleksandra Vranic, Ivan Srejovic, Jasmina Sretenovic, Sergey Bolevich, Vladimir Lj. Jakovljevic. High-protein diet and omega-3 fatty acids improve

- redox status in olanzapine-treated rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03718-6>
177. Zhang XY, Tan YL, Cao LY, Wu GY, Xu Q, Shen Y, Zhou DF (2006) Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr Res* 81:291–300.
 178. Ching-Ping Yang, Ya-Yu Wang, Shih-Yi Lin, Yi-Jheng Hong, Keng-Ying Liao, Sheng-Kuo Hsieh, Ping-Ho Pan, Chun-Jung Chen, and Wen-Ying Chen. Olanzapine Induced Dysmetabolic Changes Involving Tissue Chromium Mobilization in Female Rats. *Int J Mol Sci.* 2019 Feb; 20(3): 640.
 179. Osama Abo Alrob, Sayer Alazzam, Karem Alzoubi, Mohammad B. Nusair, Haneen Amawi, Reema Karasneh, Abeer Rababa'h and Mohammad Nammas. The Effect of Long-Term Second Generation Antipsychotics Use on the Metabolic Syndrome Parameters in Jordanian Population. *Medicina* 2019, 55, 320;
 180. Marder SR, Essock SM, Miller AL, et al. Physical health monitoring of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2004; 161:1334–1349. 8
 181. Manu P, Dima L, Shulman M, Vancampfort D, De Hert M, Correll CU. Weight gain and obesity in schizophrenia: epidemiology, pathobiology, and management. *Acta Psychiatr Scand.* 2015;132(2):97-108
 182. Stephen J Cooper^{1,3}, Gavin P Reynolds. BAP guidelines on the management of weight gain, metabolic disturbances and cardiovascular risk associated with psychosis and antipsychotic drug treatment. *Journal of Psychopharmacology* 2016
 183. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395
 184. William Nseir et al. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010 June 7; 16(21): 2579-2588
 185. De Minicis S, Day C, Svegliati-Baroni G. From NAFLD to NASH and HCC: pathogenetic mechanisms and therapeutic insights. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 5239-5249 [PMID: 23394093 DOI: 10.2174/1381612811319290006]
 186. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics* 2006; 118: 1388-1393 [PMID: 17015527 DOI: 10.1542/peds.2006-1212]
 187. Nacionalni vodič za lečenje gojaznosti. Republika Srbija 2015
 188. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140
 189. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231
 190. Massart J, Begriche K, Moreau C, Fromenty B. Role of nonalcoholic fatty liver disease as a risk factor for drug-induced hepatotoxicity. *J Clin Transl Res.* 2017;3:212–232. doi:10.18053/jctres.03.2017S1.006
 191. Tarantino G, Conca P, Basile V, et al. A prospective study of acute drug-induced liver injury in patients suffering from non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res.* 2007;37:410–415. doi:10.1111/j.1872-034X.2007.00072.x
 192. European Association for the Study of the Liver (EASL). European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO. Clinical Practice Guidelines for the

- management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016; 64: 1388-1402 [PMID: 27062661 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.11.004]
193. National Institute for Health and Care Excellence (UK). Non- Alcoholic Fatty Liver Disease: Assessment and Management. Available from: URL: <http://www.nice.org.uk/guidance/ng49>
 194. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018; 67: 328-357 [PMID: 28714183 DOI: 10.1002/hep.29367]
 195. Simona Leoni, Francesco Tovoli, Lucia Napoli, Ilaria Serio, Silvia Ferri, Luigi Bolondi. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World J Gastroenterol* 2018 August 14; 24(30): 3361-3373.
 196. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, Cooper JN, Sheridan MJ. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 745-750 [PMID: 12198701 DOI: 10.1053/gast.2002.35354]
 197. Vuppalanchi R, Gould RJ, Wilson LA, Unalp-Arida A, Cummings OW, Chalasani N, Kowdley KV; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network (NASH CRN). Clinical significance of serum autoantibodies in patients with NAFLD: results from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatol Int* 2012; 6: 379-385 [PMID: 21557024 DOI: 10.1007/s12072-011-9277-8]
 198. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, Tiribelli C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 33 [PMID: 17081293 DOI: 10.1186/1471-230X-6-33]
 199. Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, Lundbom N, Rissanen A, Ridderstråle M, Groop L, Orho-Melander M, Yki-Järvinen H. Prediction of nonalcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology* 2009; 137: 865-872 [PMID: 19524579 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.06.005]
 200. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *J Hepatol.* 2010;53:713– 718. doi:10.1016/j.jhep.2010.04.030
 201. Carney CP, Jones L, Woolson RF. Medical comorbidity in women and men with schizophrenia: a population-based controlled study. *J Gen Intern Med.* 2006;21:1133–1137. doi:10.1111/j.15251497.2006.00563.x
 202. Said MA, Sulaiman AH, Habil MH, et al. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among patients with schizophrenia receiving antipsychotics in Malaysia. *Singapore Med J.* 2012;53:801–807
 203. Bou KR. Atypical antipsychotic drugs, schizophrenia, and metabolic syndrome in non-Euro- American societies. *Clin Neuropharmacol.* 2012;35:141–147. doi:10.1097/WNF.0b013e31824d5288
 204. Zhang Y, Chen M, Chen J, et al. Metabolic syndrome in patients taking clozapine: prevalence and influence of catechol-O-methyltransferase genotype. *Psychopharmacology (berl).* 2014;231:2211–2218. doi:10.1007/s00213-013-3410-4
 205. Baptista T. Body weight gain induced by antipsychotic drugs: mechanisms and management. *Acta Psychiatr Scand.* 1999;100:3–16.

206. Kumra S, Herion D, Jacobsen LK, Briguglia C, Grothe D. Case study: risperidone-induced hepatotoxicity in pediatric patients. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:701–705. doi:10.1097/00004583-199705000-00022
207. Kemner C, Willemsen-Swinkels SH, de Jonge M, Tuynman-Qua H, van Engeland H. Open-label study of olanzapine in children with pervasive developmental disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2002;22:455–460
208. Nettleton JA. *Omega-3 Fatty Acids and Health*. New York: Springer (formerly Chapman & Hall); 1995.
209. James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:343S–348S.
210. Koski RR. Omega-3-acid ethyl esters (Lovaza) for severe hyper-triglyceridemia. *P&T*. 2008;33:271–281. 303. [Google Scholar]
211. Surette ME. The science behind dietary omega-3 fatty acids. *Can Med Assoc J*. 2008;178:177–180. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
212. Tur JA, Bibiloni MM, Sureda A, Pons A. Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. *Br J Nutr*. 2012;107(Suppl 2):S23–S52. [PubMed] [Google Scholar]
213. Meyer BJ, Mann NJ, Lewis JL, Milligan GC, Sinclair AJ, Howe PR. Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 2003; 38: 391–8.
214. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: New recommendations from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:151–152.
215. Harris WS. Omega-3 fatty acids. In: Coates PM, Betz JM, Blackman MR, et al., eds. *Encyclopedia of Dietary Supplements*. 2nd ed. London and New York: Informa Healthcare; 2010:577-86.
216. Jones PJH, Rideout T. Lipids, sterols, and their metabolites. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 11th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
217. Lichtenstein AH, Jones PJH. Lipids: absorption and transport. In: Erdman JW, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. *Present Knowledge in Nutrition*. 10th ed. Washington, DC: Wiley-Blackwell; 2012:118-31.
218. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients)*. Washington, DC: National Academy Press; 2005.
219. Calder PC. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *Br J Clin Pharmacol*. 2013 Mar;75(3):645-62. doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04374.
220. British Nutrition Foundation. *Briefing Paper: N-3 Fatty Acids and Health*. London: British Nutrition Foundation, 1999.
221. SanGiovanni JP, Chew EY. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res* 2005;24:87-138. [PubMed abstract]
222. Gabbs M, Leng S, Devassy JG, Monirujjaman M, Aukema HM. Advances in our understanding of oxylipins derived from dietary PUFAs. *Adv Nutr* 2015;6:513-40. [PubMed abstract]
223. Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med* 2008;233:674-88.

224. James M, Proudman S, Cleland L. Fish oil and rheumatoid arthritis: past, present and future. *Proc Nutr Soc* 2010;69:316-23. [PubMed abstract]
225. Wang C, Chung M, Lichtenstein A, Balk E, Kupelnick B, DeVine D, et al. Effects of omega-3 fatty acids on cardiovascular disease. external link disclaimer Summary, evidence report/technology assessment no. 94. (Prepared by the Tufts New England Medical Center Evidence-based Practice Center, Boston, MA.) AHRQ Publication No. 04-E009-1. Agency for Healthcare Research and Quality, 2004.
226. Stanley JC, Elsom RL, Calder PC, Griffin BA, Harris WS, Jebb SA, et al. UK Food Standards Agency workshop report: the effects of the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio on cardiovascular health. *Br J Nutr* 2007;98:1305-10. [PubMed abstract]
227. J. Chris Bradberry, PharmD and Daniel E. Hilleman, PharmD. Overview of Omega-3 Fatty Acid Therapies. P T. 2013 Nov; 38(11): 681–691.
228. Omega-3 Fatty Acids. American Association of Clinical Endocrinologists. https://www.aace.com/sites/default/files/2019-02/Omega-3_Fatty_Acids_092418_formatted_CR_updated_0.pdf
229. Bowman L, Mafham M, Stevens W, Haynes R, Aung T, Chen F, Buck G, Collins R, Armitage J; ASCEND Study Collaborative Group. ASCEND: A Study of Cardiovascular Events in Diabetes: characteristics of a randomized trial of aspirin and of omega-3 fatty acid supplementation in 15,480 people with diabetes. *Am Heart J* 2018;198:135144.
230. Francesco Cosentin, Peter J. Grant, Victor Aboyans, Clifford J. Baile, Antonio Ceriello, Victoria Delgado, Massimo Federici et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *European Heart Journal* (2020) 41, 255323
231. Mozaffarian D, Lemaitre RN, King IB, Song X, Huang H, Sacks FM, Rimm EB, Wang M, Siscovick DS. Plasma phospholipid long-chain omega-3 fatty acids and total and cause-specific mortality in older adults: a cohort study. *Ann Intern Med* 2013;158:515–525.
232. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *European Heart Journal* (2016) 37, 2999–3058
233. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: A systematic review. *Br J Nutr* 2012;107(Suppl 2):S201–S213.
234. Bays H. Fish oils in the treatment of dyslipidemia and cardiovascular disease. In: Kwiterovich PO Jr, ed. *The Johns Hopkins Textbook of Dyslipidemia*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins/ Wolters Kluwer Health; 2010:245–257.
235. Horrobin DF. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res* 1998;30:193–208.
236. Peet M, Glen I, Horrobin DF, editors. *Phospholipid spectrum disorder in psychiatry and neurology*. 2nd ed. Carnforth: Marius, 2003
237. Horrobin DF, Manku MS, Hillman H, Glen AIM. Fatty acid levels in the brains of schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry* 1991;30:795–805.
238. Du Bois TM, Deng C, Huang XF. Membrane phospholipid composition, alterations in neurotransmitter systems and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29:878–888

239. Fenton WS, Hibbeln J, Knable M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2000;47:8–21.
240. Kitajka K, Sinclair AJ, Weisinger RS, Weisinger HS, Mathai M, Jayasooriya AP, Halver JE, Puskas LG. Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:10931–10936
241. Kuperstein F, Yakubov E, Dinerman P, Gil S, Eylam R, Salem N Jr., Yavin E. Over expression of dopamine receptor genes and their products in the postnatal rat brain following maternal n-3 fatty acid dietary deficiency. *J Neurochem* 2005;95:1550–1562
242. Peet M, Shah S, Selvam K, Ramchand CN. Polyunsaturated fatty acid levels in red cell membranes of unmedicated schizophrenic patients. *World J Biol Psychiatry* 2004;5:92–99
243. Hibbeln J, Makino KK, Martin CE, Dickerson F, Boronow J, Fenton W S. Smoking, gender and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with schizophrenia and schizoaffective disorders. *Biol Psychiatry* 2003;53:431– 441
244. Kazumi Satogami,* Shun Takahashi, Shinichi Yamada, Satoshi Ukai, and Kazuhiro Shinosaki. Omega-3 fatty acids related to cognitive impairment in patients with schizophrenia. *Schizophr Res Cogn*. 2017 Sep; 9: 8–12. Published online 2017 May 18. doi: 10.1016/j.scog.2017.05.001
245. Kidd PM. Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids. *Altern Med Rev*. 2007 Sep;12(3):207-27.
246. Li F, Liu X, Zhang D. Fish consumption and risk of depression: a meta-analysis. *J Epidemiol Community Health* 2016;70:299-304. [PubMed abstract]
247. Appleton KM, Sallis HM, Perry R, Ness AR, Churchill R. Omega-3 fatty acids for depression in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;11:CD004692. [PubMed abstract]
248. Andjic M, Dragicin N, Radoman K, Jeremic J, Turnic TN, Srejavic I, Zivkovic V, Kovacevic M, Bolevich S, Jakovljevic V (2019) Flaxseed and evening primrose oil slightly affect systolic and diastolic function of isolated heart in male but not in female rats. *Int J Vitam Nutr Res* 8:1–9. <https://doi.org/10.1024/03009831/a00061>
249. Vasiljevic D, Veselinovic M, Jovanovic M, Jeremic N, Arsic A, Vucic V, Lucic-Tomic A, Zivanovic S, Djuric D, Jakovljevic V (2016) Evaluation of the effects of different supplementation on oxidative status in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 35:1909–1915. <https://doi.org/10.1007/s10067-016-3168-2>
250. Faghihi T, Jahed A, Mahmoudi-Gharaei J, Sharifi V, Akhondzadeh S, Ghaeli P (2012) Role of Omega-3 fatty acids in preventing metabolic disturbances in patients on olanzapine plus either sodium valproate or lithium: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Daru* 20:43. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-43>
251. N Avramovic, V Dragutinovic, D Krstic, MB Colovic, A Trbovic, S de Luka, I Milovanovic, and T Popovic. The effects of omega 3 fatty acid supplementation on brain tissue oxidative status in aged wistar rats. *Hippokratia*. 2012 Jul-Sep; 16(3): 241–245.

252. Bentsen H., Osnes K., Refsum H. A randomized placebo-controlled trial of an omega-3 fatty acid and vitamins E + C in schizophrenia. *Transl. Psychiatry*. 2013 doi: 10.1038/tp.2013.110.
253. Berger, G. E., Wood, S. J., Wellard, R. M., Proffitt, T. M., McConchie, M., Amminger, G. P., ... McGorry, P. D. (2008). Ethyl-eicosapentaenoic acid in first-episode psychosis. A 1H-MRS study. *Neuropsychopharmacology*, 33, 2467–2473
254. Wood, S. J., Cocchi, L., Proffitt, T. M., McConchie, M., Jackson, G. D., Takahashi, T., ... Berger, G. E. (2010). Neuroprotective effects of ethyl-eicosapentaenoic acid in first episode psychosis: A longitudinal T2 relaxometry pilot study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 182, 180–182.
255. Pawelczyk, T., Grancow-Grabka, M., Kotlicka-Antczak, M., Trafalska, E., & Pawelczyk, A. (2016). A randomized controlled study of the efficacy of six-month supplementation with concentrated fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, 73, 34–44
256. Pawelczyk, T., Grancow-Grabka, M., Trafalska, E., Szemraj, J., & Pawelczyk, A. (2017). Oxidative stress reduction related to the efficacy of n-3 polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia: Secondary outcome analysis of the OFFER randomized trial. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 121, 7–13.
257. Marano G1, Traversi G, Nannarelli C, Mazza S, Mazza M. Omega-3 fatty acids and schizophrenia: evidences and recommendations. *Clin Ter*. 2013;164(6):e529-37. doi: 10.7417/CT.2013.1651.
258. Emsley R., Myburgh C., Oosthuizen P., van Rensburg S.J. Randomized, placebo-controlled study of ethyl-eicosapentaenoic acid as supplemental treatment in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*. 2002;159:1596–1598. doi: 10.1176/appi.ajp.159.9.1596.
259. Emsley R., Niehaus D.J., Koen L., Oosthuizen P.P., Turner H.J., Carey P., Murck H. The effects of eicosapentaenoic acid in tardive dyskinesia: A randomized, placebo-controlled trial. *Schizophr. Res*. 2006;84:112–120. doi: 10.1016/j.schres.2006.03.023.
260. Peet M., Brind J., Ramchand C.N., Shah S., Vankar G.K. Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia. *Schizophr. Res*. 2001;49:243–251. doi: 10.1016/S0920-9964(00)00083-9.
261. Jamilian H., Solhi H., Jamilian M. Randomized, placebo-controlled clinical trial of omega-3 as supplemental treatment in schizophrenia. *Glob. J. Health Sci*. 2014;18:103–108. doi: 10.5539/gjhs.v6n7p103
262. Amminger G.P., Schäfer M.R., Papageorgiou K., Klier C.M., Cotton S.M., Harrigan S.M., Mackinnon A., McGorry P.D., Berger G.E. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: A randomized, placebo-controlled trial. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2010;67:146–154. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009
263. Pawelczyk T., Grancow-Grabka M., Kotlicka-Antczak M., Trafalska E., Pawelczyk A. A randomized controlled study of the efficacy of six-month supplementation with concentrated fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia. *J. Psychiat. Res*. 2016;73:34–44. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.11.013.

264. Joy C.B., Mumby-Croft R., Joy L.A. Polyunsaturated fatty acid supplementation for schizophrenia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2006;19:CD001257.
265. Freeman M.P., Hibbeln J.R., Wisner K.L., Davis J.M., Mischoulon D., Peet M., Keck P.E., Jr., Marangell L.B., Richardson A.J., Lake J., et al. Omega-3 fatty acids: Evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J. Clin. Psychiatry.* 2006;67:1954–1967. doi: 10.4088/JCP.v67n1217.
266. Fusar-Poli P., Berger G. Eicosapentaenoic acid interventions in schizophrenia: Meta-analysis of randomized, placebo-controlled studies. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2012;32:179–185. doi: 10.1097/JCP.0b013e318248b7bb.
267. Akter K., Gallo D.A., Martin S.A., Myronyuk N., Roberts R.T., Stercula K., Raffa R.B. A review of the possible role of the essential fatty acids and fish oils in the aetiology, prevention or pharmacotherapy of schizophrenia. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2012;37:132–139. doi: 10.1111/j.1365-2710.2011.01265.x.
268. Paola Bozzatello, Elena Brignolo, Elisa De Grandi, and Silvio Bellino. Supplementation with Omega-3 Fatty Acids in Psychiatric Disorders: A Review of Literature Data. *J Clin Med.* 2016 Aug; 5(8): 67. Published online 2016 Jul 27. doi: 10.3390/jcm5080067
269. I. Jeličić, R. Božanić, LJ. Tratnik. Napitci na bazi sirutke – nova generacija mliječnih proizvoda, *Mljekarstvo* 58 (2008) 257–274.
270. D. Stanzer, V. Stehlik-Tomas, V. Gulan Zetić, J. Manenica, Sirutka-alternativna sirovina za proizvodnju prehrambenog kvasca, *Mljekarstvo* 52 (2002) 113–124.
271. G. Bylund, *Diary processing handbook*, Tetra Pak Processing Systems ABS-221 86 Lund, Sweden, 1995
272. LJ. Tratnik, *Mlijeko-tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 1998.
273. Walstra P., Geurts T. J., Noomen A., Jellema A., Van Boekel M. (1999). *Dairy Technology: Principles of Milk, Properties and Processes*, Marcel Dekker Inc., New York, Basel, 1999.
274. Siso M. I. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey – a review, *Bioresource Technology*, 57, 1–11
275. J. Mrvcic, V. Stehlik-Tomas, S. Grba, Incorporation of copper ions by yeast *Kluyveromyces marxianus* during cultivation on whey, *Acta Aliment.* 36 (2007) 519–525.
276. D. Stanzer, S. Grba, V. Stehlik-Tomas, J. Mrvcic, Utjecaj dodatka melase na kinetiku alkoholne fermentacije surutke s pomoću kvasca *Kluyveromyces marxianus*, *Mljekarstvo* 54 (2004) 27–38.
277. OECD-FAO Agricultural Outlook 2010-2019, Highlights, str. 83, <http://www.agrioutlook.org/dataoecd/13/13/45438527.pdf>
278. J. Beucler, M. Drake, E.A. Foegeding, Design of a beverage from Whey permeate, *J. Food Sci.* 70 (2005) 277–285.
279. P. Jelen, Whey Processing, in: H. Rginski, J.F. Fuquau, P.F. Fox (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, Academic Press – An Imprint of Elsevier, Boston, London, 2003, p. 2740.
280. K. Hofvendahl, B. Hahn-Hägerdal, Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources, *Enzyme Microb. Technol.* 26 (2000) 87–107.
281. L. Axelsson, Lactic acid bacteria: classification and physiology, in: *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd rev. and exp. ed., S. Salminen, A. von Wright, A. Ouwehand (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 2004, pp. 1–66.

282. LJ. Tratnik, Uloga sirutke u proizvodnji funkcionalne mliječne hrane, *Mljekarstvo* 53 (2003) 325–352.
283. G Kontopidis, C Holt, L Sawyer . Invited review: β -lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *Journal of dairy science*, 2004
284. Nielsen, E.W., 2006. Principles of production of cheese In: Hui, H.Y. (Ed.), *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*, vol. 2. Taylor & Francis Group, New York, NY. pp. (68) 1–14.
285. Brew, K., Grobler, J., 1992. α -Lactalbumin. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., (Ed), *Advanced Dairy Chemistry, Proteins*. Elsevier Sci. Pub. Ltd., New York, NY, pp. 191–229.
286. Madureira, A.R., Pereira, C.I., Gomes, A.M.P., Pintado, M.E., Malcata, F.X., 2007. Bovine whey proteins—overview on their main biological properties. *Food Res. Int.* 40, 1197–1211.
287. Metin, M., 2005. *Süt Teknolojisi (Dairy Technology)*, sixth ed. E.U. Muhendislik Fakultesi Yayınları, İzmir.
288. Larson, B.L., 1992. Immunoglobulins of the mammary secretions. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., (Ed), *Advanced Dairy Chemistry, Proteins*, vol. 1. Elsevier Applied Science, London, pp. 231–254.
289. Plaut, A.G., Geme, J.S., 2013. Lactoferrin. In: Rawlings, N.D., Salseven, G. (Eds.), *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Academic Press, USA, pp. 3635–3640.
290. Becker, J.W., Ziffer, J.A., Edelman, G.M., Cunningham, B.A., 1977. Crystallographic studies of bovine β 2-microglobulin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 3345–3349.
291. Ha, E., Zemel, M.B., 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *J. Nutr. Biochem.* 14, 251–258.
292. Pennings, B., Groen, B., de Lange, A., Gijsen, A.P., Zorenc, A.H., Senden, J.M.G., et al., 2012. Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 302, 992–999.
293. S. Sherwood, D. Jenkins, Carbonated protein drink and method of making, U.S. Pat. US 2007/0178214 A1, 2007.
294. Stefan H. M. Gorissen, Julie J. R. Crombag, Joan M. G. Senden, W. A. Huub Waterval, Jörgen Bierau, Lex B. Verdijk, Luc J. C. van Loon. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids* (2018) 50:1685–1695 <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2640-5>
295. Sanghee Park, David D. Church, Gohar Azhar, Scott E. Schutzler, Arny A. Ferrando & Robert R. Wolfe. Anabolic response to essential amino acid plus whey protein composition is greater than whey protein alone in young healthy adults. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* volume 17, Article number: 9 (2020)
296. Ronghui S. The reasearch on the anti-fatigue effect of whey protein powder in basketball training. *Open Biomed Eng J.* 2015;9:330–4.
297. Poortmans JR, et al. Protein turnover, amino acid requirements and recommendations for athletes and active populations. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45(10):875–90.
298. Devries MC, Phillips SM. Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey. *J Food Sci.* 2015;80(S1):A8–A15.

299. Fui-Ching Lam, Tahir Mehmood Khan, Hani Faidah, Abdul Haseeb & Amer Hayat Khan. Effectiveness of whey protein supplements on the serum levels of amino acid, creatinine kinase and myoglobin of athletes: a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews* volume 8, Article number: 130 (2019)
300. Ceren Akal. Benefits of Whey Proteins on Human Health. *Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan*. Elsevier Inc.2017
301. Lacroix, I.M.E., Meng, G., Cheung, I.W.Y., Li-Chan, E.C.Y., 2016. Do whey protein-derived peptides have dual dipeptidyl-peptidase IV and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities? *J. Funct. Foods* 21, 87–96.
302. Power, O., Fernandez, A., Norris, R., Riera, F.A., Fitzgerald, R.J., 2014. Selective enrichment of bioactive properties during ultrafiltration of a tryptic digest of β -lactoglobulin. *J. Funct. Food* 9, 38–47.
303. Mullally, M.M., Meisel, H., Fitzgerald, R.J., 1997. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities of gastric and pancreatic proteinase digests of whey proteins. *Int. Dairy J.* 7, 299–303.
304. Belobrajdic DP1, McIntosh GH, Owens JA. A high-whey-protein diet reduces body weight gain and alters insulin sensitivity relative to red meat in wistar rats. *J Nutr.* 2004 Jun;134(6):1454-8. DOI: 10.1093/jn/134.6.1454
305. LS Mortensen, J Holmer-Jensen, ML Hartvigsen, VK Jensen, A Astrup, M de Vrese, JJ Holst, C Thomsen and K Hermansen. Effects of different fractions of whey protein on postprandial lipid and hormone responses in type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition* (2012) 66, 799–805
306. Ortega, L., Romero, A., Muro, C., Riera, F., 2015. Antioxidant activity and functional properties of polymerized whey products by glycation process. *Int. J. Polym. Sci.* 2015, 1–10.
307. Zhang, Q.X., Ling, Y.F., Sun, Z., Zhang, L., Yu, H.X., Kamau, S.M., et al., 2012. Protective effect of whey protein hydrolysates against hydrogen peroxide-induced oxidative stress on PC12 cells. *Biotechnol. Lett.* 34, 2001–2006.
308. Sadat, L., Cakir-Kiefer, C., N’Negue, M.A., Guillar, J.L., Girardet, J.M., Miclo, L., 2011. Isolation and identification of antioxidative peptides from bovine α -lactalbumin. *Int. Dairy J.* 21, 214–221.
309. Elias, R.J., McClements, D.J., Decker, E.A., 2005. Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase betalactoglobulin in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 53 (26), 10248–10253.
310. Tong, L.M., Sasaki, S., McClement, D.J., Decker, E.A., 2000. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *J. Agric. Food Chem.* 48 (5), 1473–1478.
311. Smithers, G.W., 2008. Whey and whey proteins—from ‘gutter-to-gold’. *Int. Dairy J.* 18, 695–704.
312. Kong, B., Peng, X., Xiong, Y.L., Zhao, X., 2012. Protection of lung fibroblast MRC-5 cells against hydrogen peroxide-induced oxidative damage by 0.1–2.8 kDa antioxidative peptides isolated from whey protein hydrolysate. *Food Chem.* 135, 540–547.
313. Howard G. Shertzer,^{3*} Sally E. Woods,³Mansi Krishan,³Mary Beth Genter,³and Kevin J. Pearson. Dietary Whey Protein Lowers the Risk for Metabolic Disease in Mice Fed a High-Fat Diet. *American Society for Nutrition*.582 Manuscript received October 7, 2010. Initial review completed November 4, 2010. Revision accepted January 7, 2011
314. Anderson R. Physical health of people with severe mental illness. *Health* 2000;320:77.

315. McCreadie RG; Scottish Schizophrenia Lifestyle Group. Diet, smoking and cardiovascular risk in people with schizophrenia: Descriptive study. *Br J Psychiatry* 2003;183:534-9
316. Peet M. International variations in the outcome of schizophrenia and the prevalence of depression in relation to national dietary practices: An ecological analysis. *Br J Psychiatry* 2004;184:404-8.
317. Ryan MC, Thakore JH. Physical consequences of schizophrenia and its treatment: The metabolic syndrome. *Life Sci* 2002;71:239-57.
318. Peet M. Nutrition and schizophrenia: Beyond omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004;70:417-22
319. Peet M, Edwards RW. Lipids, depression and physical diseases. *Curr Opin Psychiatry* 1997;10:477-80
320. Mondelli, V., Cattaneo, A., Murri, M. B., Di Forti, M., Handley, R., Hepgul, N., et al. (2011). Stress and inflammation reduce BDNF expression in first-episode psychosis: A pathway to smaller hippocampal volume. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 72, 1677–1684.
321. Meyer, U., Schwarz, M. J., & Müller, N. (2011). Inflammatory processes in schizophrenia: A promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond. *Pharmacology & Therapeutics*, 132, 96–110
322. Berk, M., Copolov, D., Dean, O., Lu, K., Jeavons, S., Schapkaitz, I., ... Bush, A. I. (2008). N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia – A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Biological Psychiatry*, 64, 361–368
323. Farokhnia, M., Azarkolah, A., Adinehfar, F., Khodaie-Ardakani, M.-R., Yekehtaz, H., Tabrizi, M., Akhondzadeh, S. (2013). N-acetylcysteine as an adjunct to risperidone for treatment of negative symptoms in patients with chronic schizophrenia: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clinical Neuropharmacology*, 36, 185–192
324. Firth, J., Stubbs, B., Sarris, J., Rosenbaum, S., Teasdale, S., Berk, M., & Yung, A. (2017). The effects of vitamin and mineral supplementation on symptoms of schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine*, 47, 1515–1527
325. Firth, J., Carney, R., Stubbs, B., Teasdale, S., Vancampfort, D., Ward, P., ... Sarris, J. (2017). Nutritional deficiencies and clinical correlates in first-episode psychosis: A systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin*. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbx162>
326. Đorđević-Nikić, M. (2002). *Ishrana sportista*. Todra, Beograd
327. O'Donnell, C. P., Allott, K. A., Murphy, B. P., Yuen, H. P., Proffitt, T.-M., Papas, A., et al. (2016). Adjunctive Taurine in first-episode psychosis: A phase 2, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 77, e1610–e1617.
328. Conus, P., Seidman, L. J., Fournier, M., Xin, L., Cleusix, M., Baumann, P. S., ... Do, K. Q. (2017). N-acetylcysteine in a double-blind randomized placebo-controlled trial: Toward biomarker-guided treatment in early psychosis. *Schizophrenia Bulletin*, 44, 317–327.
329. Walzem, R. L., C. J. Dillard, and J. B. German. 2002. Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42:353–375

330. Gad, A. S., Y. A. Khadrawy, A. A. El-Nekeety, S. R. Mohamed, N. S. Hassan, and M. A. Abdel-Wahhab. 2011. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition* 27:582–589.
331. Bounous, G. 2000. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Res.* 20:4785–4792
332. Lands, L. C., V. L. Grey, and A. A. Smountas. 1999. Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. *J. Appl. Physiol.* 87:1381–1385.
333. Kent, K. D., W. J. Harper, and J. A. Bomser. 2003. Effect of whey protein isolate on intracellular glutathione and oxidant-induced cell death in human prostate epithelial cells. *Toxicol. In Vitro* 17:27–33.
334. R. Xu , N. Liu X. Xu , and B. Kong. Antioxidative effects of whey protein on peroxide-induced cytotoxicity. *Journal of Dairy Science* Vol. 94 No. 8, 2011
335. Kohen R, Nyska A. Invited review: Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002;30:620-50
336. Ciobica A, Padurariu M, Dobrin I, Stefanescu C, Dobrin R. Oxidative stress in schizophrenia - Focusing on the main markers. *Psychiatr Danub* 2011;23:237-45.
337. Bitanihirwe BK, Woo TU. Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach. *Neurosci Biobehav Rev* 2011;35:878-93
338. Arroll MA, Wilder L, Neil J. Nutritional interventions for the adjunctive treatment of schizophrenia: A brief review. *Nutr J* 2014;13:91
339. Krebs MO. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia: Psychoses induced by phencyclidine and cortical-subcortical imbalance. *Encephale* 1995;21:581-8.
340. Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:998-1007.
341. Ohnuma T, Sakai Y, Maeshima H, Hatano T, Hanzawa R, Abe S, et al. Changes in plasma glycine, L-serine, and D-serine levels in patients with schizophrenia as their clinical symptoms improve: Results from the Juntendo University Schizophrenia Projects (JUSP). *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32:1905-12
342. Fernstrom JD, Faller DV. Neutral amino acids in the brain: Changes in response to food ingestion. *J Neurochem* 1978;30:1531-
343. Fernstrom JD. Dietary precursors and brain neurotransmitter formation. *Annu Rev Med* 1981;32:413-25.
344. Maycox PR, Hell JW, Jahn R. Amino acid neurotransmission: Spotlight on synaptic vesicles. *Trends Neurosci* 1990;13:83-7.
345. Baker GB, Hallak JE, Dilullo AF, Burbach L, Dursun SM. Amino acids in schizophrenia—glycine, serine and arginine. *Handbook of Schizophrenia Spectrum Disorders*. Vol. I. Netherlands: Springer; 2011. p. 253-62.
346. Medina J , Fernandez-Salazar LI , Garcia-Buey L , Moreno-Otero R . Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis . *Diabetes Care*. 2004 ;27 :2057 –66
347. Jungmi KimHyun, Dong PaikHyun, Dong PaikYoh, Chang YoonYoh, Chang Yoon Eunju Park. Whey Protein Inhibits Iron Overload-Induced Oxidative Stress in Rats. July 2013 *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 59(3):198-205
348. Efthalia Kerasioti, Dimitrios Stagos, Aristides M. Tsatsakis, Demetrios A. Spandidos, Ioannis Taitzoglou, and Demetrios Kouretas. Effects of sheep/goat

- whey protein dietary supplementation on the redox status of rats. *Mol Med Rep*. 2018 Apr; 17(4): 5774–5781.
349. Howard G, Shertzer, Sally E. Woods, Mansi Krishan, Mary Beth Genter, and Kevin J. Pearson. Dietary Whey Protein Lowers the Risk for Metabolic Disease in Mice Fed a High-Fat Diet. *J Nutr*. 2011 Apr; 141(4): 582–587.
 350. Nagaoka S, Kanamaru Y, Kuzuya Y. Effects of whey-protein and casein on the plasma and liver lipids in rats. *Agric Biol Chem*. 1991;55:813–8
 351. Pilvi TK, Harala S, Korpela R, Mervaala EM. Effects of high-calcium diets with different whey proteins on weight loss and weight regain in high-fat-fed C57BL/6J mice. *Br J Nutr*. 2009;102:337–41
 352. Pilvi TK, Storvik M, Louhelainen M, Merasto S, Korpela R, Mervaala EM. Effect of dietary calcium and dairy proteins on the adipose tissue gene expression profile in diet-induced obesity. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2008;1:240–51
 353. Oz HS, Chen TS, Neuman M. Nutrition intervention: a strategy against systemic inflammatory syndrome. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2009;33:380–9
 354. Todorovic N, Tomanović N, Gass P, Filipović D. Olanzapine modulation of hepatic oxidative stress and inflammation in socially isolated rats. *Pharmaceutical Sciences* 2016; 81:94–102.
 355. Soliman HM, Wagih SA, Algaidi AH. Histological Evaluation of the Role of Atypical Antipsychotic Drugs in Inducing Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adult Male Albino Rats (Light and Electron Microscopic Study). *Folia Biologica* 2013; 59:173-180.
 356. Brunt EM, Tiniakos DG. Pathological features of NASH. *Front. Biosci*. 2005; 10:1475-1484.
 357. Heidenhain M. Noch einmal über die Darstellung der Centrakörper durch Eisenhamotoxylin. Nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Hamatoxylinfarben. 2. *Wiss. Mikrosk*, 1896; 13:186
 358. Suvarna KS, Layton Ch, Bancroft JD. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8th Edition. Elsevier Science, 2018
 359. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2010;16(42):5286-96.
 360. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3. A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 2007; 39:175–191.
 361. Treana®-olanzapin. Neželjena dejstva. Sažetak karakteristika leka. *Alims* 2020
 362. Abete I, Astrup A, Martinez JA, Thorsdottir I, Zulet MA. Obesity and the metabolic syndrome: role of different dietary macronutrient distribution patterns and specific nutritional components on weight loss and maintenance. *Nutr Rev*. 2010;68(4):214-231. [EL 4; NE]
 363. Lin PH, Wang Y, Grambow SC, Goggins W, Almirall D. Dietary saturated fat intake is negatively associated with weight maintenance among the PREMIER participants. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20(3):571-575
 364. Foreyt JP, Salas-Salvado J, Caballero B, et al. Weightreducing diets: are there any differences? *Nutr Rev*. 2009(67 Suppl 1):S99-S101. [EL 4; NE]
 365. Chungchunlam SM, Henare SJ, Ganesh S2, Moughan PJ. Dietary whey protein influences plasma satiety-related hormones and plasma amino acids in normal-weight adult women. *Eur J Clin Nutr*. 2015 Feb;69(2):179-86. doi: 10.1038/ejcn.2014.266. Epub 2015 Jan 7.
 366. Mari Murashita, Ichiro Kusumi, Takeshi Inoue, Yoshito Takahashi, Hiroshi Hosoda, Kenji Kangawa, Tsukasa Koyama. Olanzapine increases plasma

- ghrelin level in patients with schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology*. 2005 Jan;30(1):106-10.
367. Референтне вредности ензима јетре; Доступно на <http://www.hronos.rs/rs/biohemijske-analize.html>
368. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse DIABETES MELLITUS. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije.2012
369. Hartweg J, Farmer AJ, Holman RR, Neil A (2009) Potential impact of omega-3 treatment on cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Curr Opin Lipidol* 20: 30–38.
370. Montori VM, Farmer A, Wollan PC, Dinneen SF (2000) Fish oil supplementation in type 2 diabetes: a quantitative systematic review. *Diabetes Care* 23: 1407–1415
371. Molinar-Toribio E, Perez-Jimenez J, Ramos-Romero S, Romeu M, Giralt M, Taltavull N, et al. (2015) Effect of n-3 PUFA supplementation at different EPA:DHA ratios on the spontaneously hypertensive obese rat model of the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 113: 878–887
372. Cai Chen, Xuefeng Yuand Shiyang Shao. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Glucose Control and Lipid Levels in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0139565.
373. Howard G. Shertzer,^{3*} Sally E. Woods,³Mansi Krishan,³Mary Beth Genter,³and Kevin J. Pearson. Dietary Whey Protein Lowers the Risk for Metabolic Disease in Mice Fed a High-Fat Diet. *American Society for Nutrition*.582 Manuscript received October 7, 2010. Initial review completed November 4, 2010. Revision accepted January 7, 2011
374. Vladimir JAKOVLJEVIC, Petar Milic, Jovana Bradic, Jovana Jeremic, Vladimir Zivkovic, Ivan Srejsovic, Tamara Nikolic Turnic, Isidora Milosavljevic, Nevena Jeremic, Sergey Bolevich, Milica Labudovic Borovic, Miroslav Mitrovic and Vesna Vucic. Standardized Aronia melanocarpa Extract as Novel Supplement against Metabolic Syndrome: A Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan; 20(1): 6.
375. Olfson M, Marcus SC, Corey-Lisle P, et al. Hyperlipidemia following treatment with antipsychotic medications. *Am J Psychiatry* 2006; 163:1821–1825.
376. HeartScore. The interactive tool for predicting and managing the risk of heart attack and stroke.Dostupno na: <https://www.heartscore.org/>
377. Marina Salviato Balbão,corresponding author Jaime Eduardo Cecílio Hallak, Emerson Arcoverde Nunes, Mauricio Homem de Mello, Andresa de Toledo Triffoni-Melo, Flavia Isaura de Santi Ferreira et all. Olanzapine, weight change and metabolic effects: a naturalistic 12-month follow up. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2014 Feb; 4(1): 30–36.
378. 2016 ESC/EAS Preporuke za lečenje dislipidemija. *European Heart Journal* (2016) 37, 2999–3058
379. Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* 2009;302:1993–2000. ESC/EAS Guidelines 3058a
380. Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR, Ventura HO. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:585–59
381. Olanzapine. LiverTOX. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548842/>
382. Samreen Ahmed, Saima Warraich. Elevated liver enzymes after olanzapine use: a case report. <https://www.ijbcp.com/index.php/ijbcp/article/view/211>

383. Effect of Olanzapine on the Liver Transaminases. *Can J Psychiatry*, Vol 48, No 3, April 2006
384. Ozcanli T., Erdogan A., Ozdemir S., Onen B., Ozmen M., Doksat K., Sonsuz A. Severe liver enzyme elevations after three years of olanzapine treatment: a case report and review of olanzapine associated hepatotoxicity. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2006;30:1163–1166.
385. Gonzalez-Heydrich J., Raches D., Wilens T.E., Leichtner A., Mezzacappa E. Retrospective study of hepatic enzyme elevations in children treated with olanzapine, divalproex, and their combination. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*. 2003;42:1227–1233.
386. Gulec M., Ozcan H., Oral E., Dursun O.B., Unal D., Aksak S., Selli J., Keles O.N., Unal B., Albayrak A., Halici Z. Nephrotoxic effects of chronically administered olanzapine and risperidone in male rats. *Bull. Clin. Psychopharmacol*. 2012;22:139–147
387. Rehmat Shah, Fazal Subhan,^a Gowhar Ali,^a Ihsan Ullah,^c Sami Ullah,^a Muhammad Shahid,^{a,d} Nisar Ahmad,^a and Khwaja Fawada. Olanzapine induced biochemical and histopathological changes after its chronic administration in rats. *Saudi Pharm J*. 2016 Nov; 24(6): 698–704.
388. Edoardo G. Giannini, Roberto Testa, and Vincenzo Savarino. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*. 2005 Feb 1; 172(3): 367–379.
389. Seren Gülşen Giray Gürgeç, Yücel Açıkar, Karakuş Semra Koçturk, Semra Koçturk. Usage of whey protein may cause liver damage via inflammatory and apoptotic responses. October 2014 *Human & Experimental Toxicology* 34(7)
390. Imran Taj Khan, Muhammad Nadeen, Muhammad Imran, Rahman Ullah, Muhammad Ajmal and Muhammad Hayat Jaspal. Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids Health Dis*. 2019; 18: 41.
391. Tong LM, Sasaki S, McClements DJ, Decker EA. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *J Agri Food Chem*. 2000;48:1473–1478. doi: 10.1021/jf991342v.
392. Erel Ö. A novel automated method to measure total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004;7:277–285. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.
393. Tong LM, Sasaki S, McClements DJ, Decker EA. Antioxidant activity of whey in a salmon oil emulsion. *J Food Sci*. 2001;8:1325–1329.
394. Carthy TLM, Kerry JP, Kerry JF, Lynch PB, Buckley DJX. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Sci*. 2015;1:45–52
395. Lieberman JA (2004) Dopamine partial agonists: a new class of antipsychotic. *CNS Drugs* 18:251–267. <https://doi.org/10.2165/00023210-200418040-00005>
396. Dalla Libera A, Rigobello MP, Bindoli A (1996) Inhibitory action of neuroleptic drugs and serotonin on dopamine autoxidation and lipid peroxidation. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 19:291–298
397. Reinke A, Martins MR, Lima M, Moreira JC, Dal-Pizzol F, Quevedo J (2004) Haloperidol and clozapine, but not olanzapine, induces oxidative stress in rat brain. *Neurosci Lett* 372:157–160. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.09.032>

398. Żebrowska E, Maciejczyk M, Żendzian-Piotrowska M, Zalewska A, Chabowski A (2019) High protein diet induces oxidative stress in rat cerebral cortex and hypothalamus. *Int J Mol Sci* 20:1547. <https://doi.org/10.3390/ijms20071547>
399. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1982) Analysis of nitrate, nitrite and (15 N) nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131–138. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90118-x](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90118-x)
400. Clouatre D. The whey to health. *Total Health*. 1999;2:65–66.
401. Türkez H, Toğar B (2010) The genotoxic and oxidative damage potential of olanzapine in vitro. *Toxicol Ind Health* 26:583–588. <https://doi.org/10.1177/0748233710373090>
402. Ji M, Li S, Dong Q, Hu W (2018) Impact of early high-protein diet on neurofunctional recovery in rats with ischemic stroke. *J Med Sci Monit* 24:2235–2243. <https://doi.org/10.12659/jmsm.906533>
403. Steve Mann, Araba Chintoh, Adria Giacca, Paul Fletcher, Jose Nobrega, Margaret Hahn, Gary Remington. Chronic olanzapine administration in rats: effect of route of administration on weight, food intake and body composition. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013 Feb;103(4):717-22. doi: 10.1016/j.pbb.2012.12.002. Epub 2012 Dec 9.
404. Vance, L. A., Jessica, G. J., Pengxiang, S., Charles, H. L., Kevin, P. M., John, L. J., Christopher, J. L. (2011) Olanzapine promotes fat accumulation in male rats by decreasing physical activity, repartitioning energy and increasing adipose tissue lipogenesis while impairing lipolysis. *Mol. Psychiatry* 16, 569-581.
405. Brunt E. M., Janney, C. G., Di Bisceglie, A. M, Neuschwander-Tetri, B. A, Bacon, B. R. Non-alcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am. J. Gastroenterol.* 94, 2467-2474.(1999)
406. Giulio, M., Mara, B., Giampaolo, B., Sara, T., Elisabetta, B., Marco Arthur, J. M., Stefania, N., Gabriele, F., Nazario, M. (2001) Non-alcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 50

БИОГРАФИЈА

Мирослав Д. Митровић

Мр сци др Мирослав Митровић, рођен је 23.12.1967 године у Крагујевцу. Основну школу „Ђура Јакшић“ и Средњу медицинску школу „Сестре Нинковић“ завршио је у Крагујевцу са одличним успехом. Медицински факултет у Крагујевцу је уписао 1988 године, а завршио у року, маја 1994 године, са просечном оценом 7,97 (седам деведесет седам). Обавезан лекарски стаж, обавио је у ЗЦ „Др Михајло Илић“, а стручни испит положио 1995 године. Током студија био је студент демонстратор на предмету Клиничка фармакологија са токсикологијом, у трајању од 4 семестра (1992/1993) и активно учествовао у раду и развоју катедре за фармакологију током деведестих година.

На Медицинском факултету у Београду, уписао је специјалистичке студије из предмета Клиничке фармакологије са токсикологијом 1996 године, које је завршио јануара 2000 године и тиме стекао звање специјалисте клиничке фармакологије са токсикологијом. Након положених усмених испита на магистарским студијама током 1996 године, одобрена му је тема: „Фармаколошка анализа контрактилног дејства бензилпеницилина на фундус желуца пацова“. За ментора је одређен проф др Слободан Јанковић. Магистарску тезу је одбранио марта 2006 године пред комисијом у саставу: проф Слободан Јанковић, проф Милорад Пантовић и проф Милица Простран.

Од 1994 године, запошљен је у фармацеутској кући „Хемофарм АД“ – Вршац, где је обављао различите послове, почев од позиције стручног сарадника, преко послова регионалног руководиоца пословног центра „Хемофарм“ у Крагујевцу, па до послова руководиоца службе маркетинга „Хемофарм АД“. Од 2007 до 2011 године обављао је послове директора за пословни развој региона Западни Балкан за компанију „ИЦП - Интерхемија“- Аустрија и компанију „Инфарм“- Београд. Од 2011 до 2016 године обављао је послове директора за пословни развој и медицински маркетинг компаније „Алвоген“ -Србија, у регији Западни Балкан. Од 2016 године па до данас обавља послове менаџера за пословни развој компаније „Фармас“ –Србија, а од 2018 године па до данас обавља послове менаџера развоја портфолија у компанији Фарманова доо Србија.

У периоду од 1998 до 1999 године био је члан управног одбора Медицинског факултета у Крагујевцу. Учествовао је активно као стручни консултант волонтер, у периоду од 1999 до 2002 године, у заједничком пројекту СПЦ- епархије Шумадијске, удружења СПЦ - „Човекољубље“ и немачке хуманитарне организације „*Diakoniewerk*“ на организацији и спровођењу хуманитарног пројекта „КУЋНЕ НЕГЕ И АПОТЕКЕ“ за најугроженије са територије Крагујевца и околине.

Члан је уредништва стручног часописа „ПОНС“. Члан је управног одбора удружења „Хиспа“- Београд. Говори и пише на руском и енглеском језику и познаје словеначки и бугарски језик. Војску одслужио 1987 године. Учесник у ратним операцијама током 1991 године као члан резервног састава војске Југославије.

Ожењен, има двоје деце.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. Nikola Cikiriz, Isidora Milosavljevic, Biljana Jakovljevic, Stefani Bolevich, Jovana Jeremic, Tamara Nikolic Turnic, **Miroslav Mitrovic**, Ivan Srejavic, Sergey Bolevich, and Vladimir Jakovljevic. The influences of chokeberry extract supplementation on redox status and body composition in handball players during competition phase. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 99:1–6 (2021) <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-009>
2. **Miroslav Mitrovic**¹, Tamara Nikolic Turnic², Vladimir Zivkovic³, Zarko Pavic⁴, Aleksandra Vranic², Ivan Srejavic³, Jasmina Sretenovic³, Sergey Bolevich⁵, Vladimir Lj. Jakovljevic^{3,5}. High-protein diet and omega-3 fatty acids improve redox status in olanzapine-treated rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03718-6>
3. Vladimir Jakovljevic^{1,2}, Petar Milic³, Jovana Bradic⁴, Jovana Jeremic⁴, Vladimir Zivkovic¹, Ivan Srejavic¹, Tamara Nikolic Turnic⁴, Isidora Milosavljevic⁴, Nevena Jeremic⁴, Sergey Bolevich², Milica Labudovic Borovic⁵, **Miroslav Mitrovic**⁶ and Vesna Vucic. Standardized Aronia melanocarpa Extract as Novel Supplement against Metabolic Syndrome: A Rat Model. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 6; doi: [10.3390/ijms20010006](https://doi.org/10.3390/ijms20010006)
4. Milic P¹, Jeremic J², Zivkovic V³, Srejavic I³, Jeremic N², Bradic J², Nikolic Turnic T², Milosavljevic I², Bolevich S⁴, Bolevich S⁵, Labudovic Borovic M⁶, Arsic A⁷, **Mitrovic M**⁸, Jakovljevic V^{9,10}, Vucic V⁷. Effects of different dietary regimes alone or in combination with standardized Aronia melanocarpa extract supplementation on lipid and fatty acids profiles in rat. *Mol Cell Biochem.* 2019 Nov;461(1-2):141-150. doi:[10.1007/s11010-019-03597-6](https://doi.org/10.1007/s11010-019-03597-6) Epub 2019 Jul 29.
5. **Miroslav Mitrovic**¹, Tamara Nikolic², Marko Turnic³, Dusan Djuric. OLANZAPINE – focus on the cardiometabolic side effects - Serbian Journal of experimental and clinical research. 2017. SJECR – D- 00054 DOI: [10.1515/sjecr-2017-0054](https://doi.org/10.1515/sjecr-2017-0054)
6. Nebojsa Tasic, Danijela Tasic, Dalibor Dragisic, **Miroslav Mitrovic**. Corelation of salt sensitivity, plasam renin activity and aldosterone in hypertensive pateints. Cardiovascular Institute „Dedinje“, Belgrade, Serbia, Hypertension, infarction and stroke prevention association - HISPA, Belgrade, Serbia. UDK: 616.12-008.331.1:612.146; 613.291:664.41 / Ser J Exp Clin Res 2017; Vol 18; Supplement No1: 55- 60. DOI: 10.1515/sjecr-2017-0036
7. Nebojsa Tasic, Danijela Tasic, Dalibor Dragisic, **Miroslav Mitrovic**. Orthostatic hypotension and therapy with an ACE inhibitor in hypertensive patients. Cardiovascular Institute „Dedinje“, Belgrade, Serbia, Hypertension, infarction and stroke prevention association - HISPA, Belgrade, Serbia. UDK: 615.225.06; 616.12-008.331.1-085.06 / Ser J Exp Clin Res 2017; Vol 18; Supplement No1: 61-66. DOI: 10.1515/SJECR-2017- 0035
8. Angelina Stevanovic, Danijela Tasic, Nebojsa Tasic, Dalibor Dragisic, **Miroslav Mitrovic**, Marina Deljanin-Ilic, Stevan Ilic, Zoran Citakovic Similarities and differences in epidemiology and risks factors of cerebral and myiocardial ischemic disease. Hispa - Hypertension, infarction & stroke prevention association, Belgrade Serbia, Dedinje Cardiovascular Institute, School of Medicine, Belgrade, Serbia , Clinical Hospital Centre “Dragisa Misovic”, Belgrade, Serbia, Institute for rehabilitation „Niska Banja“, Nis, General Hospital, Uzice. UDK: 616.831-005.4-02; 616.127-005.8-02 / Ser J Exp Clin Res 2017; Vol 18; Supplement No1: 74- 80. DOI: 10.1515/SJECR 2017- 0045

9. **Miroslav Mitrović**, Svetlana Stojkov, Vesela Radonjić, Tatjana Voskresenski, Jovanka Petrović, Dušan Đurić (UDK:616.89-008.452-085). Delirijum-fokus na lekove. Engrami- časopis za kliničku psihijatriju, psihologiju i granične discipline. Vol 37. Beograd, oktobar-decembar 2015. Br 4
10. Svetlana Stojkov, Dušan Đurić, Srđan Milovanović, **Miroslav Mitrović**, Vesela Radonjić Karakteristike upotrebe psiholeptika kod opšte populacije u Subotici u periodu od 2009 do 2012. (615:214.2.07:613.83(479.11)“2009/2012”. Engrami-časopis za kliničku psihijatriju, psihologiju i granične discipline. Vol 37. Beograd, oktobar-decembar 2015. Br 4
11. J. Djordjevic · **M. Mitrovic** · V. Marinkovic · L. Tasic · D. Krajnovic. Cost-Minimisation Analysis of Colistimethate Sodium in Serbia- off Label Use Approach. Value in Health 17(7): A399 · November 2014
12. Dušan Đurić, **Miroslav Mitrović** , Danijela Jovanovic, Zoran Jovanović, Ivan Pavlović5 , Olivera Milovanović, Tatjana Sokolović, Isidor Jevtović. Komplijansa, adherence, kokordanca i perzistenca u savrmenoj farmakoterapiji. Med. čas. 2012; 46(4): 205-213.
13. **Mitrović Miroslav**, Jedoksić Bojana, Petrović Snežana Mesto oralnih kratkodelujućih opioidnih analgetika u terapiji hroničnog kancerskog bola u svakodnevnoj praksi lekara Hitne pomoći.. Naučni časopis urgentne medicine - Halo 94. 2010, vol. 16, br. 2, str. 78-86
14. **Miroslav Mitrović**. Farmakološka analiza kontraktalnog dejstva benzilpenicilina na fundus želuca pacova.. Magistarska teza. Kragujevac, mart 2006 godine
15. Mrdjen Aleksandar. **Miroslav Mitrović**. Safety and tolerability of azithromycin during treatment of common infectious diseases: 2004-2005.. Hemofarm Group, Serbia and Montenegro. Abstracts of the 7th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, June 25-29, 2005, Poznan, Poland.
16. Slobodan M. Jankovic, Dušan B. Beleslin, Dragan Milovanovic, **Miroslav Mitrovic**, Danica Jovanovic-Micic. Diverse effects of tetramethylammonium on smooth muscle layers from the body of human stomach.. Arch Gastroenterohepatol 1997; 16(3): 80-3
17. Slobodan M. Jankovic, Dragan Milovanovic, **Miroslav Mitrovic**, Slavica Đukic-Dejanovic. Podtipovi dopaminskih receptora. Med Pregled 1996; 49 (7-8): 281-5.
18. Slobodan M. Jankovic, Dimitrios Kouvelas, **Miroslav Mitrovic**. Spasmogenic action of beta-lactam antibiotics on the gastrointestinal tract of experimental animals. Indian J Med Res 1996; 104: 216-22
19. **Mitrovic M**, Jankovic SM Effects of beta-lactam antibiotics on the gut of experimental animals.. Acta Biologicae et Medicinae Experimentalis 1996; 21(Suppl 1): 63. 11th Yugoslav Congress of Pharmacology with International Participation, Igalo-Herceg Novi, 22-26. IX 1996.
20. Dragan R. Milovanovic, Jankovic S., **Mitrovic M.**, Dejstva holinergickih agonista na izolovani fundus želuca pacova. Medicinski casopis, 1995, 62(1), 55-60.
21. Slobodan M. Jankovic, Dimitrios Kouvelas, Anastasia Argyriou, **Miroslav Mitrovic**, Athanasias G. Paradelis. Effects of beta-lactam antibiotics on isolated rat fundus., 19th International Congress of Chemotherapy 16-21 July 1995, Montreal, Canada, The Canadian Journal of Infectious Diseases, 1995, 6 Suppl. C, 361.
22. Slobodan M. Jankovic, Dušan B. Beleslin, Dragan Milovanovic, **Miroslav Mitrovic**, Ljiljana D. Bojovic and Danica Jovanovic-Micic. Different effects of nicotine, di methyl phenyl piperazinium and tetramethylammonium on smooth muscle preparations from the body of human and feline stomach. Gastroenterohepatol. Arch., 1994, 13(1-2), 44-46.

23. Janković SM, Beleslin DB, Milovanović D, Mitrović M, Jovanović-Mičić D, Vučković S. Dejstvo tetrametilamonijuma na izolovani glatki mišić tela želuca čoveka i mačke. Simpozijum: Značaj transmitera i modulatora neurohumoralne transmisije za regulaciju ćelijske aktivnosti, Beograd, 19-21.10.1994

Публиковане књиге и поглавља у књигама

1. Lekovi za bolesti mišićno koštanog sistema; **Miroslav Mitrović**, Ljiljana Bukarica Gojković, Silva Dobrić, Nebojša Tasić, Siniša Radulović. Gotovi lekovi-Tomislav Kažić. Priručnik za farmakoterapiju. XV izdanje. Integra 2016.
2. Lekovi koji deluju na nervni sistem; **Miroslav Mitrović**, Ljiljana Bukarica Gojković, Silva Dobrić, Nebojša Tasić, Siniša Radulović. Gotovi lekovi-Tomislav Kažić. Priručnik za farmakoterapiju. XV izdanje. Integra 2016.
3. Lekovi koji deluju na oko i uho. **Miroslav Mitrović**, Ljiljana Bukarica Gojković, Silva Dobrić, Nebojša Tasić, Siniša Radulović. Gotovi lekovi-Tomislav Kažić. Priručnik za farmakoterapiju. XV izdanje. Integra 2016.
4. Vademecum. Hemofarm. **Miroslav Mitrović** i saradnici. Milenijum. Vrsac. 2006
5. Uticaj antibiotika na funkciju nervnog sistema. **Miroslav Mitrović**, Mihajlo Pantović, Slobodan Jankovic. Neuronauke u susret novom milenijumu. Medicinski fakultet Kragujevac, 2006;358-364.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ Мирослав Митровић _____, изјављујем да докторска

дисертација под насловом:

Утицај протеинске дијете са или без омега-3 масних киселина на развој неалкохолне масне дегенерације јетре пацова индуковане оланзапином

која је одбрањена на _____ Факултету медицинских наука _____

Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,

да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 10.02. 2021. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Мирослав Митровић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

**Утицај протеинске дијете са или без омега-3 масних киселина на
развој неалкохолне масне дегенерације јетре пацова индуковане
оланзапином**

која је одбрањена на Факултету медицинских наука,

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

у Крагујевцу _____, 10.02.2021. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: [http://creativecommons.org/rs/](http://creativecommons.org.rs/)