

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Mr Sci. dr med. BOJANA D. DUNJIĆ-KOŠTIĆ

ZNAČAJ ODREĐIVANJA INTERLEUKINA-6  
I FAKTORA NEKROZE TUMORA KOD  
OBOLELIH OD SHIZOFRENIJE

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE  
SCHOOL OF MEDICINE

BOJANA D. DUNJIĆ-KOSTIĆ, MD, MSc

THE SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN - 6  
AND TUMOR NECROSIS FACTOR - ALPHA  
LEVELS IN PATIENTS WITH  
SCHIZOPHRENIA

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2013

**Mentor:** Prof. Dr Miroslava Jašović-Gašić, specijalista neuropsihijatrije, subspecijalista sudske psihijatrije, Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu, redovni profesor

**Komentor:** Prof.dr Nataša Petronijević, specijalista medicinske biohemije, Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu, redovni profesor

**Članovi komisije za ocenu završne teze:**

1.Prof. dr Nikola Ilanković, specijalista neuropsihijatrije, Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu, redovni profesor

2. Prof. Aleksandra Isaković, specijalista kliničke biohemije, Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu, vanredni profesor

3.Prof. dr Slavica Djukić-Dejanović, specijalista neuropsihijatrije, Medicinski fakultet Univerzitet u Kragujevcu, vandredni profesor

**Datum odbrane teze:**

## Zahvalnica

*Ovu Doktorsku tezu posvećujem mom sinu Vuku koji je bio samnom od samog početka njene izrade, koji ju je ulepšao, učinio kreativnijom, produktivnijom i slojevitijom. Zahvaljujem se i mojoj porodici na podršci, celokupnom angažmanu i nesebičnoj pomoći da ova teza u optimalnom periodu ugleda svetlo dana.*

*Zahvaljujem se svim kolegama, saradnicima i prijateljima na pomoći pri prikupljanju podataka i uzoraka i celokupnom angažmanu koji ovakva vrsta studije zahteva.*

*Posebnu zahvalnost dugujem kolegici i prijatelju Ass.dr Maji Ivković, na nesebičnom stručnom davanju i pomoći pri skupljanju i analizi rezultata, pripremi publikacija, na tome što me je naučila da kompleksnije i sveobuhvatnije sagledavam pojave i što me je pustila da slobodno razmišljam.*

*Zahvaljujem se i mojoj drugarici i kolegici dr Maji Pantović na nesebičnoj pomoći, posvećenosti i vremenu koje je izdvojila na analizu rezultata, na viščasovnim razgovorima i podršci u onim trenucima kada ni sama nisam verovala da se nadzire kraj.*

*Posebnu zahvalnost dugujem i kolegama sa Instituta za Biohemiju na čelu sa komentorom Prof.Natašom Petronijević sa čijom laboratorijom postoji dugogodišnja izvrsna i produktivna saradnja. Prof. Nataši Petronijević se zahvaljujem na pomoći pri izradi rezultata, organizaciji i interpretaciji istih, na ljudskoj širini i podršci. Zahvalnost dugujem i svojoj drugarici i kolegici Doc.Neveni Radonjić na svim danima koje je provela u laboratoriji u efikasnoj analizi rezultata i na podršci tokom izrade teze.*

*Posebnu zahvalnost dugujem svom mentoru Prof. Dr Miroslavi Jašović-Gašić na svesrdnoj pomoći, razumevanju i podršci prilikom izrade teze, na tome što je uvek bila prisutna i dostupna za sva razmišljanja, kao i na energičnosti i spremnosti za rešavanje svih prepreka.*

# **ZNAČAJ ODREĐIVANJA INTERLEUKINA-6 I FAKTORA NEKROZE TUMORA KOD OBOLELIH OD SHIZOFRENIJE**

## **REZIME**

Uvod: Alteracije proinflamatornih citokina (Interleukina -6 i Tumor nekrosis faktora-alfa) se često povezuju sa shizofrenijom i depresijom, dužinom bolesti, psihopatologijom i tretmanom. Prema „citokinskoj hipotezi“ proinflamatorni citokini su označeni kao ključne neuromodulatorne supstance koje imaju ulogu u centralnoj koordinaciji bihevioralnih, neuroendokrinih i neurohemisjskih ispoljavanja kod obolelih.

Cilj: Ispitati razlike u serumskim koncentracijama IL-6 i TNF- $\alpha$ : kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti i u fazi remisije; između obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti i u fazi remisije u poredjenju sa kontrolnom grupom depresivnih pacijenata. Ispitati povezanost koncentracija ispitivanih citokina sa godinama početka bolesti, periodom neležnosti, dužinom lečenja i dužinom bolesti među obolelima od shizofrenije i depresije. Ispitati povezanost koncentracija IL-6 i TNF- $\alpha$  i psihopatoloških korelata shizofrenije (nivoa opšte psihopatologije, intenziteta pozitivnih i negativnih simptoma).

Metod: U istraživanje je uključeno 80 subjekata (43 obolela od shizofrenije i 37 obolelih od depresije). Shizofreni pacijenti su posmatrani kao studijska grupa (S) u dve faze bolesti

(akutna faza -T1 i remisija -T2), dok su depresivni bili kontrolna grupa i posmatrani su samo u akutnoj fazi. Uzorak je bio mešovao prema polu, pušačkom statusu i prebivalištu. Procena inteziteta psihopatologije merena je pomoću tri skale (Skala za procenu pozitivnog i negativnog sindroma shizofrenije–PANSS; Opšti klinički utisak – CGI; Hamiltonova skala za procenu depresivnosti -HAMD). Serumske koncentracije interleukina određivane su ELISA tehnikom.

Rezultati: Nije nadjena razlika u serumskim nivoima IL-6 i TNF- $\alpha$  izmedju akutne faze i remisije u studijskoj grupi, kao ni razlika u ispitivanim citokinima izmedju shizofrenih i depresivnih pacijenata, bez obzira na fazu bolesti. Nadjene su pozitivne korelacije izmedju akutne faze i remisije kod obolelih od shizofrenije izmedju IL-6 i TNF- $\alpha$ , kao i pozitivna korelacija izmedju IL-6 i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi u kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata. Pol, starost, pušenje i indeks telesne mase nisu uticali na nivoe citokina. Utvrđena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i broja hospitalizacija u grupi obolelih od shizofrenije i skoro značajna korelacija izmedju IL-6 u remisiji i ukupne dužine bolesti kod obolelih od shizofrenije. U kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata nadjene su sledeće pozitivne korelacije: izmedju IL-6 i dužine lečenja i ukupne dužine bolesti, kao i izmedju TNF- $\alpha$  i perioda nelečenosti. Utvrđena je skoro značajna pozitivna korelacija izmedju IL-6 u remisiji kod obolelih od shizofrenije i subskale opšte psihopatologije u akutnoj fazi. Nadjena je i veća promena IL-6 kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti na pozitivnoj subskali PANSS-a u akutnoj fazi. Nije nadjena povezanost ispitivanih citokina kod obolelih od shizofrenije (ni u jednoj od faza bolesti) sa vrednostima na CGI skali. Nije

nadjena povezanost vrednosti koncentracija ispitivanih citokina kod obolelih od depresije i skora na HAMD skali.

**Zaključak:** Rezultati aktuelnog istraživanja sugerišu na kompleksnu interakciju u samom imunološkom sistemu, koja se ogledala kroz nadjene korelacije medju ispitivanim citokinima. Takodje, zapažene korelacije citokina sa kliničkim varijablama od značaja za depresiju i shizofreniju upućuju na činjenicu da sama bolest, njena progresija, period neležnosti i finalno ekspozicija psihofarmacima mogu uticati na citokinski disbalans, ali i da ne moraju biti nužno linearne tokom vremena.

**Ključne reči:** Shizofrenija, depresija, Interleukin-6, Tumor nekroza faktor-alfa

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Psihijatrija

# **THE SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN - 6 AND TUMOR NECROSIS FACTOR - ALPHA LEVELS IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA**

## **ABSTRACT**

Introduction: Alterations in serum levels of pro-inflammatory cytokines (Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-Alpha ) are frequently associated with schizophrenia and depression, duration of the illnesses, their psychopathology and treatment. According to the „cytokine hypothesis“ pro-inflammatory cytokines are considered as crucial neuromodulatory substances which take part in central coordination of behavioural , neuroendocrine and neurochemical clinical manifestations in patients suffering from these illnesses.

Aim: Comparison of the differences in serum concentrations of IL-6 and TNF- $\alpha$ : a) in schizophrenic patients in the acute phase of the illness and in remission; b) in schizophrenic patients in the acute phase of the illness and in remission compared to the control group of depressive patients. Investigation of the connection between the studied cytokines and the age of the patients at the onset of the illness, with periods of time without treatment, duration of treatment, and total illness duration in both schizophrenic and depressive patients. Investigation of the connection between concentrations of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum and psychopathological correlations of schizophrenia (level of general psychopathology, intensity of positive and negative symptoms).



Method: The study included 80 subjects (43 suffering from schizophrenia and 37 suffering from depression). Schizophrenic patients were observed as the study group (S) in two phases of the illness (in the acute phase – T1 and in remission – T2), while the patients with depression, who were classified as the control group, were observed only in the acute phase. The subjects in the sample were matched by gender, smoking status and place of residence. Assessment of intensity of psychopathology was measured by three scales: Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS); Clinical Global Impressions Scale (CGI); and Hamilton Depression Rating Scale (HAMD). Interleukin serum concentrations were measured by ELISA technique.

Results: The differences in serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  were found neither in the acute phase, nor in remission in the study group subjects. Regardless of the phase of the illness, no difference in the studied cytokine concentrations was found between the schizophrenic and the depressive patients, either. Positive correlations were found between IL-6 and TNF- $\alpha$  concentrations in the acute phase and remission in schizophrenic patients, as well as a positive correlation between IL-6 and TNF- $\alpha$  in the acute phase in depressive patients of the control group. Gender, age, smoking status and body mass index (BMI) did not affect cytokine levels. A positive correlation was established between IL-6 levels in remission and the number of hospital admissions in the group of schizophrenic patients, and a positive correlation (close to being statistically significant) between IL-6 concentration in remission and the total duration of illness in schizophrenic patients. The following positive correlations were found in the control group of depressive patients: a) between IL-6 levels and duration of treatment, as well as overall duration of illness; b)

between TNF-  $\alpha$  levels and periods of time without treatment. A positive correlation (close to being statistically significant) was found between IL-6 levels in schizophrenic patients in remission and general psychopathology subscale in the acute phase. A considerable alteration of IL-6 level was found in patients who had had lower scores on the positive PANSS in the acute phase. No connection was found between the studied cytokines in schizophrenic patients (in neither phase of the illness) and the scores on CGI scale. No connection was found between the levels of the studied cytokines in depressive patients and the HAMD scores.

**Conclusion:** The results of the current study suggest complex interactions within the very immune system, which could be observed through the established correlations between the studied cytokines. In addition, the observed correlations between the cytokines and the clinical variables relevant for depression and schizophrenia support the fact that the very illness, its progression, time without treatment and final exposure to psychopharmaceuticals could lead to cytokine imbalance. However, these correlations are not expected to be necessarily linear over time.

**Key words:** Schizophrenia, depression, Interleukine-6, Tumor necrosis factor-alpha

Scientific field: Medicine

Specific scientific field: Psychiatry

# SADRŽAJ

<b>1.UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2.RADNA HIPOTEZA.....</b>	<b>28</b>
<b>3.CILJEVI ISTRAŽVANJA.....</b>	<b>28</b>
<b>4. MATERIJAL I METOD.....</b>	<b>29</b>
<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>38</b>
<b>6. DISKUSIJA.....</b>	<b>52</b>
<b>7. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>75</b>
<b>8.LITERATURA.....</b>	<b>78</b>
<b>Biografija autora.....</b>	<b>109</b>

## 1. UVOD

Složenost etiologije psihijatrijskih poremećaja kao što su depresija i shizofrenija ogleda se u disfunkciji različitih bioloških sistema. Koncept odnosa između psihijatrijskih bolesti i imunoloških abnormalnosti je formiran još pre jednog veka. Dvadesetih godina prošlog veka spekuliralo se sa mogućim uticajem imunih procesa u patogenezi shizofrenije, naročito katatonije (Dameshek 1930). Burch je još ranih šezdesetih godina ukazao na moguću autoimunu etiologiju shizofrenije, analizirajući specifičnosti vezane za pol i godine početka nekih autoimunih bolesti (prevažodno reumatoidnog artritisa), i zaključio da shizofrenija može imati autoimunu podlogu, s obzirom na vreme početka bolesti, polne razlike i relapsirajući karakter (Burch, 1964). Knight (1982) pokušavajući da integriše dopaminsku i autoimunu hipotezu shizofrenije je prepostavio da je jedan od uzroka ove duševne bolesti i pojava antitela koja stimulišu dopaminske receptore.

U poslednje vreme, naročito u poslednje dve decenije usavršavanje na tehničkom nivou olakšalo je brzi razvoj psihoneuroimunologije. Veliku pažnju privlače i proučavanja imunog sistema i njegove moguće uključenosti u neke etiološke aspekte psihijatrijskih oboljenja. Naime, shizofrenija je jedno od najtežih psihijatrijskih oboljenja, sa prevalencijom od oko 1% u svetskoj populaciji. Nekoliko teorijskih konstrukata je predlagano u cilju rasvetljavanja mogućih etioloških činilaca, počev od genetskih teorija, preko neurorazvojne teorije, neurotransmiterskog disbalansa, virusnih infekcija i finalno imunoloških disfunkcija ili autoimunih mehanizama (Jones et al. 2005). Veliki broj studija je pokazao da upravo kod obolelih od shizofrenije i depresije postoji disregulacija imunih

funkcija (Arlot et al. 2002). Citokini su označeni kao ključne supstance uključene u aktivaciju imunog sistema. Detaljnije eksplorisanje imunološke disfunkcionalnosti može da doprinese i shvatanju multifaktorijalne patogeneze shizofrenije (Stöber et al. 2009; Müller& Ackenheil, 1998; Bessis et al. 2007), ali i drugih neuropsihijatrijskih oboljenja kao sto su drugi poremećaji raspoloženja, Alchajmerova bolest itd. (Kronfol et al. 2000).

### **CITOKINI - Opšti deo**

Citokini su sekretorni proizvodi ćelija imunog sistema. Po prirodi su glikozilirani proteini relativno male molekulske mase. Citokine izlučuju razne ćelije kao što su limfociti, monociti, makrofazi, fibroblasti itd. Citokini deluju preko receptora, gde nakon vezivanja za receptor na ciljnoj ćeliji dolazi do transkripcije gena sa posledičnim fenotipskim ili funkcionalnim promenama ciljne ćelije (Ćulić, 2005; Abbass&Lichtman,2008).

Osnovne karakteristike citokina su:

- multifaktorijalnost (jedan citokin ostvaruje različite funkcije u zavisnosti od tipa ćelije za koju se vezuje),
- pleotropizam (jedan citokin može da deluje na različite tipove ćelija),
- antagonizam (jedan citokin može da inhibira dejstvo drugog),
- sinergizam (jedan citokin može da stimuliše dejstvo drugog) i
- hijerarhija (različita efikasnost i prioritet).

Na osnovu mesta delovanja citokini ispoljavaju:

- autokrino dejstvo (lokalno) ciljno mesto delovanja citokina je ćelija koja je izlučila citokin;

- parakrino dejstvo (lokalno) - ciljno mesto delovanja citokina je susedna ćelija;
- endokrino dejstvo (sistemsko) - citokini izlučeni u cirkulaciju deluju na udaljeno mesto (ovo delovanje je dosta retko).

Na osnovu dejstva citokini se dele na:

- Citokine koji stimulišu nespecifičan imuni odgovor

Ovu familiju proizvode ćelije mononuklearnofagocitnog sistema, dendritične ćelije i makrofagi, a u manjoj meri i T limfociti. Predstavnici ove grupe su IL-1,6,10,12,15,18.

- Citokine koji stimulišu specifičan imuni odgovor

Ovu familiju proizvode dominantno T limfociti, koji prepoznaju antigen specifičan za ćelije. Najvažnji predstavnici ove grupe su: IL-2,4,5,13, Interferon- $\gamma$  (INF $\gamma$ ), transformišući faktor rasta beta (TGF- $\beta$ ), limfotoksin (LT).

- Citokini koji stimulišu hematopoezu

Ova familija citokina se proizvode od strane stromalnih ćelija koštane srži, a ispoljava stimulatorni efekat na rast i diferencijaciju nezrele leukocitarne loze (Abbass&Lichtman, 2008)

Sumarno, zajednička svojstva citokina su sledeća: a) citokini uglavnom deluju lokalno (autokrino i parakrino) retko endokrino; b) svoju aktivnost ispoljavaju vezujući se za specifične receptore na površini ciljnih ćelija ili tkiva ili preko ćelijske membrane; c) jedna ćelija može da proizvodi više citokina; različiti tipovi ćelija mogu da proizvedu isti citokin; d) jedan citokin može da deluje na više različitih tipova ćelija; e) više različitih citokina može da ispolji istu aktivnost; jedan citokin može da indukuje ili inhibira produkciju

drugog; j) jedan citokin može da potencira ili inhibira dejstvo drugog; mogu biti pozitivni i negativni regulatori imunog odgovora; k) efektorske funkcije citokina su aktivacija i diferencijacija ćelija, hemotaksa i proliferacija širokog spektra ćelija (Burtis et al. 2006)

### **Citokini i centralni nervni sistem**

Imuni, endokrini i nervni sistem interaguju medjusobno preko citokina, hormona i neurotransmitera (Drzyzga et al. 2006; Masek et al. 2003). Citokini imaju ključnu ulogu u međućelijskoj komunikaciji u okviru imunog sistema, ali i između imunog i centralnog nervnog sistema (CNS). Oni utiču na aktivaciju, diferencijaciju i opstanak neurona u periodu značajnom za neurorazvoj (Stöber et al. 2009). Citokini su heterogena grupa „messenger“ molekula koju sintetišu imunokompetentne ćelije (limfociti, makrofagi) u cilju da regulišu imuni odgovor.

Iako sama njihova uloga može varirati, postoje dve klase citokina (Schiepers et al. 2005):

- a) proinflamatorni ( u koje spadaju IL-1,2,6,12, TNF $\alpha$ ,TNF $\beta$ , IFN $\gamma$ , IFN  $\alpha$ ) i
- b) anti-inflamatorni (u koje spadaju IL- 4,10,13). IL-8 ima i jedne i druge karakteristike.

Imuni sistem nije sistem koji je zatvoren i funkcioniše samostalno kako se ranije mislilo, već zajedno sa endokrinim i centralnim nervnim sistemom čini „mrežu“ sistema koji su u medjusobnoj komunikaciji, interakciji i reciprocitetu. Imuni sistem je sličan po funkcionisanju sa endokrinim sistemom jer šalje poruke mozgu koristeći hemiske prenosioce (citokine) koji se oslobadjaju od strane imunih ćelija ili organa (Dunn, 2006).

Medjusobna povezanost ovih sistema, ali i regulatorna uloga citokina u CNS-u ogleda se u nekoliko stvari (Müller&Ackenheil, 1998):

- a) iniciranje imunog procesa u CNS u toku zapaljenja;
- b) regulisanje krvno -moždane barijere (KMB);
- c) reparirajući i razvojni mehanizmi posle povrede;
- d) regulacija endokrinog sistema i osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (HPA);
- e) inhibitorni i stimulatorni efekat na dopaminsku, noradrenalinsku, serototninsku i acetilholinsku neurotransmisiju.

Citokini nisu sposobni da prodju krvno-moždanu barijeru (KMB) pod fiziološkim uslovima. Identifikovano je nekoliko načina na koje citokini na mestima gde KMB odsutna ili manje restriktivna, mogu da predju od krvi do moždanog parenhima i na taj način aktiviraju CNS. Neki od tih načina su aktivni transport (preko proteina nosača), pasivni transport, zatim na mestima gde je integritet KMB-e narušen i preko n.vagusa (Seidel et al. 1999; Merrill&Murphy, 1997; Chandler et al. 1997). Nakon ulaska u moždani parenhim, citokini se vezuju za receptore koji se nalaze po površini raznih ćelija (uključujući mikrogliju, astrocite i neurone). Citokini su takodje sposobni da se vežu za citokinske receptore na cerebrovaskularnim endotelnim ćelijama, indukujući aktivaciju sekundarnog glasnika (npr. NO i PG) (Maier&Watkins, 1998). Nadjeno je i da ćelije glije sekretuju citokine nakon antigenske aktivacije. Na kraju, pojedini autori ističu da se sekrecija citokina u CNS-u može biti stimulisana i od strane neurotransmitera (Norris&Benveniste,1993, Müller&Ackenheil,1998). Nekoliko citokina uključujući i faktore rasta su prisutni i funkcionalni u CNS-u npr: tumor nekrozis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon (IFN), Interleukin-1,2,3,4,6,10,12,15,18, Neurotrofni moždani faktor (*Brain-Derived*



*Neurotrophic Factor*) -BDNF, Faktor rasta nerva (*Nerve growth factor*)- NGF itd. (Monji et al. 2009). Izdvojićemo neke koji su do sada najbolje opisani, kako bi smo detaljnije predstavili njihovu široku funkciju u okviru CNS-a.

## **O interleukinu-6 (IL-6) i Tumor nekroza faktoru-alfa (TNF- $\alpha$ )**

### **Interleukin-6 (IL-6)**

Molekularna konfiguracija IL-6 nije u potpunosti razjašnjena. Međutim, poznato je da pripada familiji proteina sa 4- $\alpha$ -heliksom. Molekulska težina IL-6 se kreće od 20 do 29 kDa. Endotoksini, IL-1 i u manjoj meri TNF- $\alpha$  doprinose lučenju IL-6. Pod normalnim fiziološkim uslovima, nivo IL-6 u CNS-u je nizak. Međutim, prilikom moždanog oštećenja, inflamacije i kod neurodegenerativnih oboljenja dolazi do povišenja nivoa IL-6. Moždane ćelije koje proizvode IL-6 *in vitro* su endotelijalne i glijalne ćelije kao i neuroni (Jüttler et al. 2002). Ekspresija iRNK za IL-6 je pokazana u hipokampalnim i piramidalnim neuronima, girus dentatusu, hipotalamusu, piriformnom korteksu, Purkinjeovim ćelijama i granularnim ćelijama olfaktornog bulbusa i cerebeluma. Ekspresija IL-6 je takođe pokazana u senzornim i simpatičkim neuronima, kao i u holinergičkim i neuronima  $\gamma$ -Aminobuterna kiseline) (GABA-ergičkim neuronima) odraslog pacova (Gadient&Otten, 1994; Schöbitz et al. 1994). IL-6 svoje dejstvo na ciljne ćelije ispoljava vezujući se za receptorski kompleks koga čine membranski- ili solubilni- IL-6 receptor i transmembranski glikoprotein 130 (gp130). Smatra se da je za aktivaciju receptora neophodno formiranje heksamernog kompleksa koga čine po dva od prethodno navedenih proteina. Formiranje IL-6

receptorskog kompleksa dovodi do fosforilacije i aktivacije tirozin kinaze (JAK kinaze) vezanih za gp130. JAK aktivacija uzrokuje fosforilaciju tirozina na STAT molekulu (*Signal Transducer and Activator Transcription*). STAT molekuli su transkripcioni faktori, koji nakon fosforilacije dimerizuju, premeštaju se u jedro i vezuju za promotore gena koji su regulisani pod dejstvom IL-6. Brojna istraživanja su pokazala da IL-6 ispoljava višestruka dejstva na ćelije u CNS-u, kako zaštitna tako i destruktivna. Više studija je pokazalo da je IL-6 uključen u preživljavanje neurona, zaštitu i diferencijaciju. *In vitro* studije su pokazale da IL-6 stimuliše neuronsku diferencijaciju PC12 ćelija (ćelijska linija poreklom od feohromocitoma srži nadbubrega pacova) (Satoh et al. 1988), kao i preživljavanje neurona u kulturi (Hama et al. 1991) i štiti primarnu kulturu neurona od glutamatergičke toksičnosti kao i holinergičke neurone u mozgu pacova od neurotoksičnih efekata NMDA (N-metil-D-aspartat) (Van Wagoner&Benveniste, 1999). U glijalnim ćelijama, IL-6 stimuliše proliferaciju astrocita i smatra se da je uključen u proces astroglioze. Takođe, moduliše ekspresiju brojnih neurotrofina, zapaljenskih i imuno-vezanih molekula. IL-6 takođe ispoljava neuroendokrino dejstvo. Naime, IL-6 delujući na hipofizu povećava nivo adrenokortikotropnog hormona (ACTH) u serumu. Takođe, direktnim delovanjem na nadbubrežne žlezde povećava produkciju glikokortikoida. IL-6 je pleotropni citokin, u krvi se oslobadja od različitih ćelija (makrofaga, monocita, T i B limfoita) IL-6 je takodje usko povezan sa osovinom hipofiza-hipotalamus–nadbubreg (HPA). IL-6 aktivira B ćelije da sintetizuju antitela. Što se tiče CNS, IL-6 produkuju aktivirani astrociti i ćelije mikroglije. Medjutim, produkcija IL-6 značajno zavisi od tipa ćeije. Tako, IL-1, TNF- $\alpha$  i noradrenalin indukuju produkciju IL-6 iz astrocita, ali ne iz mikroglije, dok je produkcija iz mikroglije

stimulsana G-CSF (*granulocyte coloni stimulating factor*). Nekoliko studija je pokazalo da IL-6 može uticati na egzacerbaciju autoimunih bolesti u CNS. U hipotalamusu IL-6 stimuliše oslobađanje oslobađajućeg hormona hormona rasta (*Growth-hormone-releasing hormone*)- GHRH i tireostimulišućeg hormona (*Thyroid-stimulating hormone*) –TSH, kao i IL-1. IL-6 *in vitro* stimuliše i sekreciju prolaktina, hormona rasta (*Growth hormone*) -GH i luteinizirajućeg hormonona (*Luteinizing hormone*) –LH (Müller&Ackenheil, 1998). Zapaženo je da administracija IL-6 dovodi do aktivacije HPA osovine, što se manifestuje povećanjem plazma koncentracija ACTH i kortikosterona (Dunn, 2006; Wang & Dunn, 1998). Nije zapaženo da IL-6 ima uticaja na noradrenalinski metabolizam, dok su Zalcman i sar. (1994) našli povećanu dopaminsku aktivnost u prefrontalnom korteksu prilikom i.p. aplikacije (animalni modeli). IL-6 pokazuje trofične efekte na gliju i oligodendrogliju. Paradoksalno, IL-6 povećava nivoe intracelularnog kalcijuma za vreme NMDA receptorske aktivacije, povećavajući neurotoksičnost i ćelijsku smrt u granularnim neuronima. Tako IL-6 može biti i neurotrofni i neurotoksični faktor u različitim neuronima i na različitim stadijumima razvoja mozga. Upravo ova dualna osobina IL-6 možda je i ključna za ispoljavanje psihotičnih simptoma (Singh et al. 2009). Što se tiče koncentracije IL-6 kod obolelih od shizofrenije istraživanja su prilično kontradiktorna, u nekima se navode visoke koncentracije kod pacijenata koji pate od shizofrenije (Müller& Ackenheil, 1998) čak i povećanje solubilnog IL-6 receptora (s-IL-6R), dok u drugima studijama to nije pokazano (Singh et al. 2009). Što se tiče depresije, opservirano je da proinflamatorni citokini (medju kojima je i IL-6) utiču na neuroplasticitet dovodeći do apoptoze, a kompromituju i grananje neurona (Zunszain et al. 2011). Od proinflamatornih citokina značajnih za depresiju najviše izučavani su IL-1 $\beta$  i IL-6 za koje se smatra da imaju ključnu ulogu upravo u sinaptičkom

plasticitetu, neuromodulaciji i neurogenezi (McAfoose & Baune, 2009). Dowlati i sar. (2010) su u meta-analizi koja je uključivala 24 studije pokazali da je koncentracija IL-6 (ali i TNF alfa) statistički značajno viša kod depresivnih pacijenata nego kod zdravih kontrola. U studiji Howren-a i sar. (2009) takodje je pokazano da koncentracije IL-1 i IL-6 pozitivno koreliraju sa depresijom.

### **Tumor nekroza faktor-alfa (TNF- $\alpha$ )**

TNF- $\alpha$  se eksprimira kao tip II membranski protein koji je usidren transmembranskim domenom, a obradjuje se intracelularno pod dejstvom enzima TACE (*tnf- $\alpha$ -konvertujući enzim*; ovaj enzim je takodje poznat pod nazivom ADAM-17). Sintetiše se kao neglikoziliran protein molekulske mase od približno 25 kDa. Inverzno je orjentisan, što znači da se karboksi-terminalni kraj nalazi ekstracelularno, a aminoterminalni kraj intracelularno. Nakon sinteze, latentni pro-TNF- $\alpha$  se nalazi na ćelijskoj membrani monocita i drugih ćelija. TACE seče pro-TNF $\alpha$  otpuštajući aktivnu, solubilnu formu (17kDa) koja homotrimerizuje (Burtis et al. 2006). Biološki aktivni TNF- $\alpha$  je homotrimer težine 51 kDa, koji ima prostorni oblik piramide. TNF- $\alpha$  deluje preko 2 poznata receptora i to: TNFR-1 (p55) i TNFR-2 (p75). U CNS ovi receptori su ekspimirani na neuronima, astrocitima i ćelijama mikroglije. Nakon vezivanja liganda, TNF receptori trimerizuju što dovodi do konformacione promene na receptoru, i disocijacije inhibitornog proteina SODD sa intracelularnog domena smrti (*death domain*). Adaptorni protein TRADD (*tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein*) se zatim vezuje za intracelularni

domen smrti i predstavlja osnovu za dalje vezivanje proteina. Posle vezivanja TRADD-a, može da dodje do inicijacije tri signalna puta: aktivacija NF $\kappa$ B (nuklearni faktor  $\kappa$ B)-započinje fosforilacijom inhibitorne subjednice (I $\kappa$ B) putem NF $\kappa$ B esencijalnog modulatora, što dovodi do disocijacije i na kraju degradacije inhibitorne subjednice. NF $\kappa$ B, dimerizovan protein, se premešta u jedro gde reguliše transkripciju gena vezivanjem za specifične DNK sekvence, i može da bude ili aktivator ili represor vezivanjem za određenu sekvencu. Aktivacija NF $\kappa$ B signalnog puta se smatra da ima ulogu u preživljavanju ćelije, proliferaciji, inflamatornom odgovoru i indukciji sinteze anti-apoptotskih faktora. Drugi signalni put je aktivacija JNK puta (c-Jun-N-terminalna kinaza) - aktivacija ovog puta dovodi do povećane aktivnosti nekoliko transkripcionih faktora, uključujući aktivator protein-1 (AP-1) i specifičan protein (SP-1), putem JNK-posredovane fosforilacije. JNK signalni put je uključen u ćelijsku diferencijaciju, proliferaciju i ima pro-apoptotsku ulogu. Treći signalni put je indukcija ćelijske smrti- nakon vezivanja TRADD adaptornog proteina, dolazi do regrutovanja Fas, internalizacije i posledične aktivacije kaspaze-8. Visoka koncentracija kaspaze-8 indukuje autoproteolitičku aktivaciju i sledstveno proteolitičko aktiviranje efektorskih kaspaza, što dovodi do programirane ćelijske smrti. TNF $\alpha$  je citokin koji sinergistički deluje sa još nekoliko citokina, i ima jak toksični efekat. U CNS-u njega oslobadjaju astrociti, ali i mikroglija. Čini se da TNF alfa takodje utiče na balans neurotransmitera, ali razlicito na razlicitim stadijumima poremećaja. Tako, akutno oslobadjanje TNF- $\alpha$  ima stimulišući efekat na kateholaminski sistem, dok hronično otpuštanje praktično dovodi do inaktivacije kateholaminske sekrecije (Soliven& Albert, 1992). Navedni konstrukt se dovodi u paralelu sa patofiziološkim mehanizmima

karakterisiticnim za shizofreniju gde je zapaženo da je dopaminska hipersekrecija povezana sa pozitivnim simptomima i akutnom fazom, dok je nedostatak u oslobadjanju dopamina karakterističan za negativne simptome shizofernije. Takodje, zapaženo je da TNF- $\alpha$  ima značajnu ulogu u kognitivnim oštećenjima (naročito u demenciji), ali i da ima jednu od uloga u procesima demijelinizacije kod multiple skleroze. Oligodendrociti se smatraju ciljnim neuronima podložnim citotoksičnom efektu TNF-a (Müller& Ackenheil, 1998). Što se tiče uticaja na HPA osovinu, nadjeno je kako na animalnom tako i na humanim modelima da administracija TNF- $\alpha$  dovodi do aktivacije HPA osovine (Michie et al. 1988; Besedovsky et al. 1991). Studija O'Brien-a i sar. (2008) vršena je u cilju ispitivanja plazma koncentracija kako proinflamatornih tako i antiinflamatornih citokina kod pacijenata u fazi akutnog pogoršanja shizofrenije. Merene su koncentracije IL-4,6,8,10,TNF-alfa i solubilnog IL-6 receptor kod pacijenata u akutnoj fazi u poredjenju sa zdravim kontrolama. Pacijenti u akutnoj fazi su imali značajno veće koncentracije TNF- $\alpha$  i značajno snižene koncentracije IL-4 u poredjenju sa kontrolama. Nije nadjena statistička značajnost za druge ispitivane citokine.

Ukratko na Tabeli 1. biće prikazane najvažnije funkcije opisanih citokina, njihova lokalizacija kao i uticaj na psihološko funkcionisanje (vidi Tabelu 1.).

Tabela 1. Funkcija, lokalizacija, biološki efekti pojedinih citokina u centralnom nervnom sistemu (Müller&Ackenheil,1998)

	<b>Funkcija u perifernom imunom sistemu</b>	<b>Funkcija u CNS-u</b>	<b>Lokalizacija receptora u CNS-u</b>	<b>Izvor u CNS-u</b>	<b>Efekat na neurotransmitere</b>	<b>Uticaj na psihološke funkcije</b>
<b>IL-1</b>	Pleotropna aktivacija; proliferacija T i B ćelija; makrofagi-citokini↑	Stimulacija HPA osovine, temperatura, spavanje	Hipokampus; hipotalamus; <i>brain-stem</i>	Astrociti; mikroglia	↑serotonin, noradrenalin, dopamin Neuroendokrina stimulacija	Uticaj na spavanje, nagon,stres, „ <i>sickness behaviour</i> “
<b>IL-2</b>	Aktivacija T, T helper, NK i B ćelija	Uticaj na metabolizam dopamina; oštećenje KMB	Piramidne ćelije pored hipokamusa; locus ceruleus	Astrociti; mikroglia	Uticaj na dopamin, noradrenalin, acetilholin	Memorija, kognicija
<b>IL-6</b>	Inflamatorni citokini stimulisu B ćelije; sinteza At i proteina akutne faze, sinergizam sa IL-1	oštećenjeKMB; produkcija IgG	Hipokampus; Prefrontalni korteks	Astrociti; mikroglia	Uticaj na serotonin, noradrenalin, dopamin	Stres?
<b>TNF-α</b>	Endogeni pirogen; aktivacija makrofaga	Citotoksični efekat; demijelinizacija; temperatura	Ubikvitarna	Astrociti; mikroglia	Akutno:↑ kateholamina; hronično ↑ kateholamina	Kognicija?

## **Imunološki aspekti shizofrenije**

Tokom poslednje dekade dokazi koji idu u prilog uključenosti imunog sistema u etiopatogenezu shizofrenije se uvećavaju. Povećan rizik za shizofreniju povezuje se sa infekcijama rano tokom perinatanog perioda (Bilbo&Shwarz, 2009), promenama citokina i njihovih receptora u krvi i cerebrospinalnoj tečnosti (Zhang et al. 2002.), aktivacijom mikroglije i sledstvenim oslobadjanjem proinflamatornih citokina i slobodnih radikala (Monji et al. 2009), disbalansom T-helper-1/T-helper-2 (Th-1/Th-2) (Müller et al. 1999), smanjenom mitogen indukovanom limfocitnom proliferacijom (Chengappa et al. 1995), prisustvom “*antibrain At*” u serumu (Henneberg et al. 1994) i finalno interakcijama na nivou gen-okolina o čemu govori i “*Two hit*” hipoteza (Bayer et al. 1999).

## **Citokini i infekcija u ranom razvoju - konsekvence u odraslom dobu?**

Koncept fetalnog programiranja i fetalnog porekla adultnih bolesti je polje koje se ubrzano razvija poslednjih par godina, a kojim se ukazuje na značaj perinatalnog perioda i na rana iskustva iz tog perioda koja mogu modulirati normalan razvoj, a čije reperkusije su vidljive u adultnom dobu. Za razliku od relativno dobro proučenog uticaja ranih životnih stresova i sledstvenog povećanja glukokortikoida, uticaj imunog sistema na neurorazvoj i kasnije bihevioralne konsekvence u odraslom dobu su još uvek nepoznanica. Medjutim, postoje studije koje potvrđuju da izloženost infektivnim agensima tokom perinatalnog perioda mogu imati posledice u odraslom dobu kao što su povećana reaktivnost na stres, povećana osetljivost na bolesti i povećana vulnerabilnost ka kognitivnim i neuropsihijatrijski



oboljenjima kao što je između ostalog i shizofrenija ( Bilbo&Schwarz, 2009; Mayer et al. 2005). Epidemiološke studije su pokazale da infekcija majke virusom influence tokom trudnoće povećava rizik za shizofreniju deteta za 3-7 puta (Brown et al. 2004). Postavlja se pitanje na koji način infekcija majke tokom trudnoće dovodi do citokinskog disbalansa kod fetusa? Predloženo je nekoliko varijanti: prvo virusna ili bakterijska infekcija se prepoznaje od strane perifernih imunih ćelija i to preko vezivanja za receptore (kao što je na primer „*toll like receptors*“ TLRs). Aktivacija navedenog receptora dovodi do produkcije i oslobađanja različitih citokina i drugih medijatora zapaljenja u periferni majčin imuni sistem (Matsumoto et al. 2004; Kawai&Akira, 2006). Ovako produkovani majčini citokini mogu prolaziti placentu i ulaziti u cirkulaciju fetusa. Još uvek se postavlja pitanje da li je efikasnost uticaja citokina zavisna od transplacentarnog prolaza, određene vrste citokina, gestacione dobi, fizioloških uslova (Jonakait, 2007). Tako, IL-6 prolazi placentu kod pacova u ranoj i srednjoj gestaciji, ali ne i u kasnoj (Dahlgren et al. 2006). Drugi mogući izvor citokina u fetalnom okruženju je i produkcija od same placente. Naime, citokini su regulatorne komponente placente i imaju bitnu ulogu u održavanju integriteta placentarnih struktura i funkcija (Jonkait, 2007). Ćelije placente kao npr. trofoblasti, epitelne ćelije uterusa, horijonske ćupice na svojoj površini eksprimuju različite receptore među kojima je i TLRs (Holmlund et al. 2002; Schaefer et al. 2004; Abrahams&Mor 2005; Krikun et al. 2007). Tako, ove ćelije mogu izazvati dodatni odgovor citokina na infekciju majke, a što za uzvrat daje i promenu nivoa citokina u okruženju fetusa. Treći izvor povećane citokinske produkcije i sekrecije posle infekcije majke tokom trudnoće je i sam fetalni sistem. Međutim, ovaj efekat je pod uticajem tačno određenog perioda razvoja fetusa. Ustaljivanje funkcije imunog sistema zahteva seriju veoma dobro koordinisanih razvojnih

dogadjaja koji počinju u ranom životu fetusa (Holt&Jones, 2000). Medjutim, ono što je sporno kod trećeg načina je činjenica da je kod većine sisara fetalni imuni sistem relativno slabo razvijen u ranoj i srednjoj gestaciji, i funkcionalno sazrevanje se postiže tek u kasnoj gestaciji i postnatalnom stadijumu (Holsapple et al. 2003). Kao posledica, fetalna citokinska reakcija na infekciju majke je zavisna od precizne gestacione dobi (Mayer et al. 2006). Pitanje koje se nameće je i da li postoji „vremenski prozor“ maksimalne vulnerabilnosti za prenatalnu infekciju i posledične abnormalnosti u mozgu i bihevioralnom razvoju? Na animalnim modelima pokazano je da su rani i srednji stadijum posebno vulnerabilni, dok se pretpostavlja da je kod ljudi prvi trimestar vulnerabilniji nego drugi. Dalje, navešćemo nekoliko studija koje su pokazale da infekcija influencom kod ljudi dovodi do povećane produkcije citokina od strane majčinog i detetovog imunog sistema kao i placente, a što sve povećava rizik za shizofreniju (Brown et al. 2004). Kao što je rečeno, citokini se smatraju ključim supstancama vaznim za migraciju neurona i glijalnih celija, kao i za diferencijaciju i sinapticku maturaciju istih (Nawa&Takei, 2006). Glijalne ćelije su vazne za apoptozu, rast aksona i angiogenezu (Rakic&Zecevic, 2000), dok astrociti imaju ulogu u formiranju sinapsi tokom razvoja (Ullian et al. 2004) i razvoj mikroglije koji se dešava paralelno sa neurogenezom u većini moždanih struktua (Riced&Barone, 2000). Iz prethodno navedenog se vidi koliko povećane koncentracije proinflamatornih citokina (koje se stvaraju tokom perinatalne infekcije od strane majčinog i detetovog imunog sistema kao i placente) su povezane sa abnormalnim fetalnim razojem i povećavaju rizik za neurorazvojna oboljenja (Mayer et al. 2006; Yu et al. 2004). Tako su IL-6, IL-1 $\beta$  i TNF povećani kod dece sa ozbiljnim perinatalnim komplikacijama (Müller&

Ackenheil, 1998). Još jedan od načina na koji citokini ostvaruju ulogu i nepovoljno deluju na pojedine moždane funkcije je preko citokinskih receptora. Citokinski receptori su široko rasprostranjeni u mozgu, ali je njihova najveća gustina u hipokampusu (Schneider et al. 1998). Time se i objašnjavaju kognitivna oštećenja u neuropsihijatrijskim bolestima, jer upravo zbog gore navedenog, hipokampus se smata posebno osetljivim na imunološke alteracije (Lynch et al. 2004). Na koji način infekcija dovodi do kognitivnih oštećenja je zanimljivo pitanje i dosta ispitivanja na animalnim modelima je sprovedeno u cilju eksploracije mogućih mehanizama. Ukratko hipoteze su sledeće: infekcija koja se dešava tokom „senzitivnog perioda“ dovodi do parcijalnih kognitivnih oštećenja hipokampusa. Sa druge strane, predpostavlja se da rana infekcija dovodi do latentnih ili „skrivenih“ promena u imunom sistemu koji su otkriveni nekim drugim imunim izazovom. Ukratko, kombinacija ranih prenatalnih događaja sa izazovima u mladosti i adultnom dobu (stres, infekcija) su neophodni za manifestaciju bolesti, a o kojoj govori tzv. „two-hit“ hipoteza (Choy et al. 2009; Maynard et al. 2001). Simplifikovano rečeno, prema „two hit“ hipotezi individue pod rizikom su nosioci mutiranog gena kandidata - „prvi udar“ - *first hit* koji tokom fetalnog razvoja prima i „drugi udar“ - *second hit* u formi nekog faktora iz okruženja ( Bayer et al. 1999; Robertson et al. 2006). Vrlo je verovatno, da citokini kod humanih fetusa prenose imune/inflamatorne signale kroz KMB u razvoju što u njihovim još uvek nezrelim mozgovima dovodi do poremećaja u strukturnom i funkcionalnom razvoju (i to prevashodno dopaminskih i GABA-ergičkih neurona) (Watanabe et al. 2010). U zaključaku se navodi da su „rani“ životni događaji (tokom senzitivnog perioda neurorazvoja) ti koji utiču na formiranje načina na koji imuni sistem utiče na razvoj mozga kao i na posledice u kasnijem životnom dobu.

## Citokini i glija

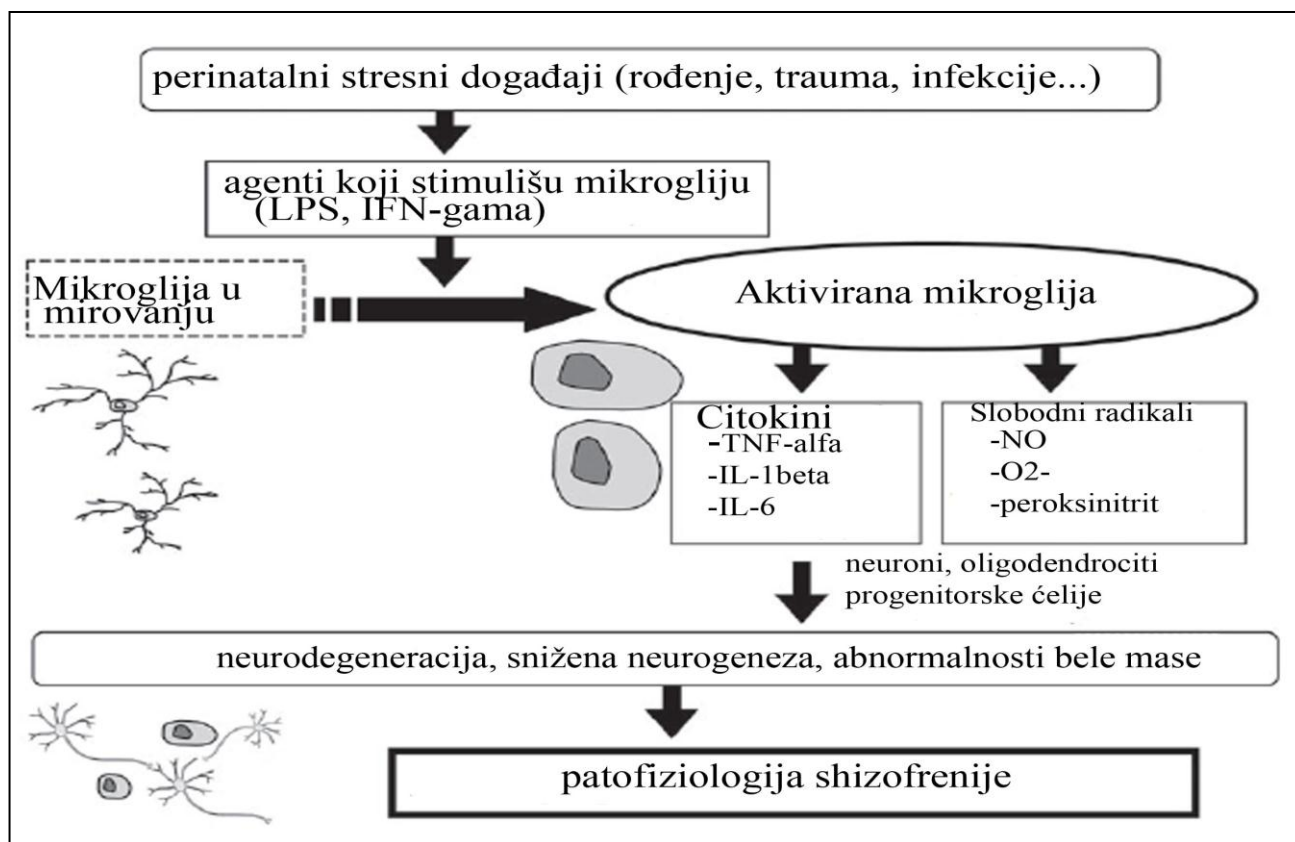
Glijalne ćelije se dele u tri glavne kategorije: oligodendrociti, astrociti, mikroglijalne ćelije. Oligodendrociti su prisutni u beloj masi i obrazuju mijelinski omotač oko aksona. Astrociti su dugo razmatrani kao značajni za metabolizam neurona i finalno, mikroglijalne ćelije koje nemaju neuralno poreklo i predstavljaju imune ćelije u mozgu (Achour&Pascual, 2010).

Krepelin je još u 19 veku (Krepelin, 1919) sugerisao na vezu između infekcije i kasnije psihoze i rekao da su promene u gliji jedna od 4 osnovne promene u mozgu. Mikroglija ima dvojnu ulogu i zaštitnu i patološku. Sa jedne strane, produkuje neurotrofične faktore koji pomažu u reparaciji ćelija, regrutuje imune ćelije u mozak što pomaže uklanjanju infekcije ili celularnom debridmanu (Lancette-Hebert et al. 2007), dok sa druge strane hronična i prolongirana mikroglijalna aktivacija je povezana sa mnogim neuroinflamatornim i neurodegenerativnim bolestima kao što su Parkinsonova bolest, Multipla skleroza, Alchajmerova bolest (Perry, 2004). U cilju odgovora na povredu ili infekciju kao imuni izazov mikroglija postaje više aktivana. Tokom perinatalnih infekcija registruje se povećana glijalna aktivnost (Billiards et al. 2006). Jednom aktivirana glija produkuje mnoštvo citokina, hemokina i drugih faktora, što ima uticaja na neuralnu funkciju. Posebno osetljiv period za kasniju vulnerabilnost na imune stimulse je kasni drugi i početak trećeg trimestra (Rezaie&Male, 2002). Mikroglija je „rezervoar“ proinflamatornih citokina (IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) i igra antigen prezentujuću ćeliju u CNS (Bessis et al. 2007). Uprkos činjenici da zauzima oko 10% ukupnih moždanih ćelija, mikroglija ima osobinu da jako

brzo ogovori na najmanje patološke promene u mozgu i da doprinese, direktno, degeneraciji neurona produkujući različite proinflamatorne citokine i slobodne radikale (Monji et al. 2009; Carson et al. 2008). Interakcija neuron-mikroglia je odgovorna za balans izmedju sinaptogeneze i apoptoze tokom razvoja mozga i povreda.

Sve je veći broj dokaza da je neuroinflamacija u shizofreniji uzrokovana povećanom koncentracijom nekoliko pro-inflamatornih citokina. Preterana ekspresija citokina u mozgu je značajan faktor koji doprinosi neurotoksičnosti i neurodegeneraciji (Stöber et al. 2009) (Shema 1).

Shema 1. Mikroglialna hipoteza shizofrenije (Monji et al. 2009)



Zanimljiv je podatak da se pretražujući bazu podataka *Pub Med* i koristeći ključnu reč „neuroinflamacija“ pronalazi svega 300 naučnih radova i to ne pre 1995. godine (Streit et al. 2004). Povećane serumske koncentracije IL-2,6,8 primećene su kod obolelih od shizofrenije (Zhang et al. 2004). Povećana koncentracija S100B (marker oštećenja CNS tkiva kod neurodegenerativnih oboljenja) u cerebrospinalnom likvoru primećen je kod osoba obolelih od shizofrenije sa predominacijom negativne fenomenologije i hroničnim tokom. Epidemiološke studije su potvrdile i značaj virusne infekcije majke za vreme trudnoće kao i značaj komplikacija trudnoće i porodjaja kao značajnog rizika za shizofreniju. Poznato je da uznapredovalost inflamatornog procesa igra značajnu ulogu u svim ovim okolnostima (Monji et al. 2009). Studija koja je proučavala prefrontalni korteks (PFC) kod obolelih od shizofrenije pokazala je da se molekularna osnova kod shizofrenije menja od ranog ka hroničnom stadijumu. Tako je rana faza bolesti povezana sa poremećajem u transkripciji gena, RNA ekspresiji itd., a dugotrajna bolest je povezana sa inflamacijom, odgovorom na stimulus i imunim funkcijama (Narayan et al. 2008). Prolongirana mikrogljalna hiperaktivnost može voditi do apoptoze neurona i oštećenja mozga, što se često vidja kod brojnih neurodegenerativnih oboljenja kao što je Parkinsonova bolest, Alchajmerova bolest itd. (Block & Hong, 2005). Neurorazvojni i neurodegenerativni procesi su značajni za shizofreniju i mogu biti povezani sa mikrogljalnom aktivacijom (Perz-Neri et al. 2006). Hipoglutamatergija i oštećenje NMDA signalizacije leži u osnovi shizofrenije. Sva tri do sada poznata NMDA antagonista indukuju pojačanu aktivnost mikroglije, a što je i pokazano na animalnim modelima (Monji et al. 2009). Interesantno je da je mikrogljalna aktivnost ili povećanje denziteta

ćelija mikroglije utvrđeno i post-mortem kod individua obolelih od shizofenije (Bayer et al. 1999; Steiner et al. 2006). Povećanje ćelija mikroglije zapaženo je u prednjem cingulatnom korteksu i mediodorzalnom talamusu kod ljudi koji su počinili suicid u stanju akutne psihotične epizode (Steiner et al. 2008). Neka novija istraživanja beleže i veću mikroglijalnu aktivnost u sivoj masi kod shizofrenih pacijenata, a pozitronskom emisionom tomografijom (PET-om) je dokazano da postoji veća mikroglijalna aktivnost kod pacijenata koji boluju oko pet i više godina od shizofenije (Berckel et al. 2008). Pojedini autori sugerišu da je neurogeneza mnogo više povezana sa patofiziologijom shizofenije nego sa depresijom (Reif et al. 2006). Tako je ponovljena administracija fenciklidinom (PCP-om) dovodi do inhibicije neurogeneze u hipokampusu *in vivo* (Monji et al. 2009). DISC1 (*Disrupted in schizophrenia 1*) je dobro poznat gen „osetljivosti/podložnosti“ na shizofreniju. Novije studije potvrđuju da je DISC1 reguliše integraciju novih neurona u adultnom mozgu. Navedeni podaci govore u prilog bliske veze između shizofenije i neurogeneze. Inflamacija u CNS-u oštećuje adultnu neurogenezu u hipokampusu. Proinflamatorni citokini kao IL1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  inhibišu neurogenezu *in vivo* (Monji et al. 2009). Proinflamatorni citokini kao što je TNF- $\alpha$  su medijatori oksidativnog stresa i uzrokuju apoptozu u kortikalnim neuronima kao i oligodendrocitima kod ljudi (Medina et al. 2002; Buntinx et al. 2004). Dalje, NO ne samo da direktno indukuje neuralnu apoptozu već je i uključen u citokinima-uzrokovanu neuralnu apoptozu (Hu et al. 1997). Interakcija NO i O<sub>2</sub> (superoxid anjona) koji nastaje iz aktivirane mikroglije daju peroksinitrat koji je visoko toksičan i okidač je programirane ćelijske smrti. Visoki nivoi NO i TNF- $\alpha$  utiču na sinaptogenezu, sinaptički plasticitet i konekcije, ali i na sastav sinaptičke membrane

(Sunico et al 2005; Stellwagen & Malenka, 2006). Alternacije u sinaptičkoj organizaciji su jedne od ključnih karakteristika shizofenije (Robertson et al. 2006).

### **Th-1/Th-2 disbalans**

Pojedina istraživanja ističu da je prenatalna infekcija povezana sa ranom senzitivacijom imunog sistema i da navedeno može rezultirati disbalansom u imunom odgovoru (Th-1 vs. Th-2) (Müller & Schwarz, 2007). U slučaju shizofrenije u korist povećanog Th-2 odgovora (Müller & Schwarz, 2007; Müller & Ackenheil, 1998). Th-1 sistem karakteriše - produkcija IL-2 i INF $\gamma$  (smanjeni *in vitro*, povećani *in vivo*) (Ganguli et al. 1989; Kim et al. 2000). Th-2 sistem karakteriše-porast IL-6, solubilnog IL-6 receptora i IL-10, ali i IL-4 u CSF kod mladih shizofrenih pacijenata (Na et al. 2007; Cazzullo et al. 1998; Mittleman et al. 1997). Empirijski podaci su još uvek nekonzistentni oko pitanja Th-1/ Th-2 disbalansa (Baker et al. 1996). Smanjen Th-1 odgovor i povećan Th-2 odgovor kod obolelih od shizofrenije u vezi je sa enzimom indolamin 2,3, dioksidogenaza (IDO) koji je stimulisan od strane Th-2 citokina. Stimulacija IDO je povezana sa povećanom produkcijom kinurenske kiseline (KYN-A) koja je produkt triptofan/kinurenskog metabolizma i koji je jedini NMDAR antagonist. KYN-A doprinosi glutamatergičkoj hipofunkciji antagonizovanjem NMDA. Povećanje KYN-A u cerebrospinalnom likvoru u CNS-u pacijenata sa shizofrenijom, možda, objašnjava glutamatergičko-dopaminergičku disregulaciju. Inhibicija ciklooksigenazom-2 (COX-2) menja Th1 - Th2 balans. Nekoliko studija je pokazalo da Th-2 indukuje efekte prostaglandin E2, glavnog produkta COX-2, dok je inhibicija COX-2 povezana sa inhibicijom Th-2 grupe citokina i indukcijom Th-1 grupe citokina (Stolina et



al. 2000). Prostaglandin E2 indukuje produkciju IL-6, koji je povećan u shizofreniji. COX-2 inhibicija izgleda utiče na „balansiranje“ Th-1 –Th-2 imunog odgovora (Litherland et al. 1999). Muller i sar. (2005) su izveli dvostruko slepu studiju, gde je pacijentima pored standarde terapije risperidonom uveden celekoksib koji je selektivni inhibitor COX-2 i poredili sa grupom na placebo. Značajno brže poboljšanje je primećeno u grupi pacijenata koji su pored rispolepta primali i antiinflamatorni lek u poredjenju sa placebo tretiranom grupom. Ovaj nalaz je jedan od najačih dokaza o značaju aktivacije imunog sistema u egzacerbaciji shizofrenije (Müller et al. 2005).

Za razliku od shizofrenije, gde se predpostavlja da je Th-1-Th-2 balans narušen u smislu redukcije Th-1 imunog odgovora i povećavanja Th-2 imunog odgovora, u depresiji je situacija drugačija u smislu povećanog Th-1 imunog odgovora. Karakteristike imune aktivacije u depresiji uključuju: povećanje limfocita i fagocita, povećanje indikatora aktiviranih imunih ćelija (neopterin, sIL-2R), povećane serumske koncentracije proteina akutne faze, povećanje nekih proinflamatornih citokina kao što su IL-1, 2, 6, TNF- $\alpha$  itd.

### **Shizofrenija - autoimuno oboljenje?**

Mnoge imunološke alteracije su primećene kod obolelih od shizofrenije tokom poslednjih godina. Tako, one uključuju morfološke promene u limfocitima, promenjene nivoe CD4+CD45RA+ T ćelija, CD8+ T ćelija, CD5+ B ćelija, smanjen ili povećan nivo  $\gamma$ -globulina u serumu, povećane nivoe cirkulišućih citokina (naročito pro-inflamatornih citokina), povišene nivoe antivirusnih antitela itd. (Jones et al. 2005; Rothermund et al. 2001). Nekoliko istraživanja dokazuju moguću direktnu ili indirektnu vezu između

autoimunosti i shizofrenije, međutim rezultati su još uvek kontroverzni. Naime, postoji nekoliko zajedničkih karakteristika za autoimune bolesti: povezanost sa drugom autoimunom bolešću kod iste osobe ili u istoj porodici, prisustvo imunih ćelija u zahvaćenom organu, povezanost sa MHC haplotipovima, visoke serumske koncentracije autoantitela, depoziti kompleksa Ag-At u zahvaćenom organu i poboljšanje bolesti na imunosupresivnu terapiju (Jones et al. 2005). Što se tiče povezanosti sa drugim autoimunim bolestima, epidemiološke studije su pokazale da rođaci osoba obolelih od shizofrenije imaju povećani rizik za razvijanje neke autoimune bolesti (npr. dijabetes melitusa tip-1) (Wright et al. 1996). Kod pacijenata sa shizofrenijom postoji negativna korelacija sa reumatoidnim artritismom (Gorwood et al. 2004). Sistemski lupus eritematosus (SLE) je povezan sa shizofrenijom i dosta se često javlja kod obolelih od ove vrste duševne bolesti, najverovatnije i zbog terapije fenotijazinima ili dibenzodijazepinima (Goldman et al. 1980; Wickert et al. 1994). Dalje, postoje indicije da se pojedine ćelije imunog sistema nalaze u ciljnim organima, u povećanoj koncentraciji, kod obolelih od shizofrenije. Tako, nadjena je povećana aktivnost limfocita u cerebrospinalnom likvoru (Nikkila et al. 2001). Ranih šezdesetih godina prošlog veka, nekoliko istraživača je opisalo prisustvo različitih antitela protiv mozga „*antibrain antibodies*“ kod pacijenta koji boluju od shizofrenije (Heath&Krupp 1967; Fessel, 1962). Međutim, istraživanja su u velikoj meri kontradiktorna. Tako, nekoliko istraživačkih grupa je opisalo povećano prisustvo navedenih antiela „protiv mozga“ ili pojedinih regija mozga (Shima et al. 1991), amigdala, frontalnog korteksa, cingulatnog girusa i septalnog područja (Henneberg et al. 1994) kod osoba sa shizofrenijom u odnosu na kontrole. Sa druge strane ima i istraživanja koja nisu našla razliku između osoba sa shizofrenijom u poredjenju sa kontrolnom grupom

(Logan&Deodnar, 1970). Antitela usmerena protiv nekoliko neurotransmiterski receptora su takodje istraživana. Nekoliko grupa israživača našlo je značajno više nivoe At protiv muskarinskih-1 (M1) holinergičkih receptora (Borda et al. 2004; Tanaka et al. 2003) nikotinskih acetilholinskih receptora (Mukherjee et al. 1994) dopaminskih (D2) receptora (Tanaka et al. 2003; Chengappa et al. 1993) i serotoninskih receptora (5-HT1a) (Tanaka et al. 2003) u grupi obolelih od shizofrenije u odnosu na zdrave kontrole.

Najdirektniji dokaz za autoimunu etiologiju bolesti je direktan tranfer T ćelija ili At sa obolelog na zdravu individuu, i konsekventno indukovanje karakteristika bolesti kod zdrave osobe. Šezdesetih godina prošlog veka Heath i sar. (1967) su izolovali protein taraksein iz seruma obolelih od shizofenije. Administracijom tarakseina intravenski majmunima, dovodila je do promena na elektroencefalografu (EEG) i to sličnih kao kod obolelih od shizofrenije. Dalje, kada je taraksein intravenski ubrizgan zdravim dobrovoljcima, rezultat je bio isti u smislu promena na EEG-u, ali i indukcija psihotične fenomenologije koja je opservirana kod shizofrenih. Jedna od poteškoća u prihvatanju ideje da je bolest CNS-a indukovana At je i ustaljeno mišljenje da krvno-moždana barijera ograničava ulaz cirkulišućih At u normalni nervni sistem. Medjutim, da bi „antimoždana antitela“ prošla u CNS, KMB mora biti oštećena na neki način. Buduća istraživanja su neophodna, naročito ako se ima u vidu da postoje autoantitela kod ljudi sa shizofrenijom koja su direktno usmerena protiv neurotransmiterskih receptora. Takva istraživanja bi bila od kvalitativnog značaja jer bi unapredila sam tretman (potencijalni imunoterapeutski pristup lečenju) ovog teškog duševnog oboljenja.

## **Imunološki aspekti depresije**

Depresija je najrasprostranjenije psihijatrijsko oboljenje u zapadnoj civilizaciji i veliki zdravstveni problem sa prevalencom od 4.4% do 20% u opštoj populaciji (Dowlati et al. 2010). S obzirom na multifaktorijalnost i heterogenost ovog oboljenja veliki broj teorija je predložen u cilju rasvetljavanja kompleksne etiopatogeneze ovog oboljenja: najpre monoaminergička teorija bazirana na deficitu biogenih amina, zatim teorija koja se odnosila na disfunkcionalnost osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg koja se bazira na hiperaktivnosti ovog sistema, zatim kognitivne i bihevioralne teorije, teorije neurodegeneracije i u poslednje vreme sve popularnija “citokinska teorija depresije” (Zunszain et al. 2011). Citokinska hipoteza depresije ukazuje na to da su proinflamatorni citokini ključne supstance u neuromodulaciji i medijaciji bihevioralnih, neuroendokrinih i neurohemijskih karakteristika depresije (Schiepers et al. 2005).

Još devedesetih godina prošlog veka je predpostavljano da je depresija povezana sa aktivacijom sistema imunog odgovora. Zapaženo je da su mnoge infektivne, autoimune i degenerativne bolesti (npr. Sistemski lupus, Reumatoidni artritis itd.) povezane sa depresivnim raspoloženjem (Schiepers et al. 2005). Dalje, primećeno je da kod pacijenata obolelih od kancera ili hepatitisa C, kod kojih su aplikovani proinflamatorni citokini u terapijske svrhe, dolazi do razvoja depresivnog raspoloženja, anhedonije, poremećaja ciklusa budnost spavanje, gubitka na težini, zamora, psihomotorne usporenosti, sniženja koncentracije itd. Dugo se mislilo da je mozak “privilegovan“ organ u imunološkom smislu, ali se danas zna da se proinflamatorni citokini koji se sintetišu kao odgovor na infekciju zapravo ti koji dovode do promena u mozgu kao i u ponašanju koje se zove

“*sickness behaviour*” (Maier, 1998; Baune et al. 2010; Yirmiya 2000; Pavlović, 2002; Zunszain et al. 2011). Ukratko, inflamatorni model u major depresiji je „*sickness behaviour*“, a koga karakteriše slabost, letargija, gubitak koncentracije, redukovan unos hrane itd. Ova simptomatologija koja se javlja tokom infekcije ili inflamacije povezana je sa pojavom proinflamatornih citokina (IL-1,6, TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$ ). Put ovih citokina od periferije ka mozgu dešava se preko aferentnih neurona i kroz direktno pogadjanje amigdala i drugih regija mozga (Dantzer, 2001). Mehanizmi koji doprinose inflamaciji i mogu uzrokovati depresivno stanje su sledeći: a) direktan uticaj proinflamatornih citokina na metabolizam serotonina i noradrenalina; b) disbalans izmedju tipa 1 i tipa 2 imunog odgovora koji vodi povećanom metabolizmu triptofana i serotonina preko aktivacije enzima IDO, a što je dalje povezano sa c) smanjenom dostupnošću triptofana i serotonina; d) narušavanje kinureninskog metabolizma preko produkcije NMDA receptorskog agoniste QUIN; e) disbalans u aktivaciji astrocita i mikroglialnih ćelija i sledstveno povećana produkcija QUIN. Citokinska hipoteza depresije govori o tome da stresori, kako unutrašnji (npr. inflamatorni proces) tako i spoljašnji (npr. psihosocijalni stres) mogu da budu “okidač” za razvoj depresije preko inflamatornog procesa (Maes et al. 2009). Zapravo, aktivacija imunog sistema dovodi do brojnih neuroendokrinih i neurotransmiterskih promena. Proinflamatorni citokini utiču i na neuroplasticitet dovodeći do apoptoze, kompromituju grananje neurona (Zunszain et al. 2011) itd. Od proinflamatornih citokina značajnih za depresiju najviše se pominju IL-1 $\beta$  i IL-6 za koje se smatra da imaju ključnu ulogu upravo u sinaptičkom plasticitetu, neuromodulaciji i neurogenezi (McAfoose, 2009). Dowlati i sar. (2010) su u meta-analizi koja je uključivala 24 studije pokazali da je koncentracija IL-6 (ali i

TNF- $\alpha$ ) statistički značajno viša kod depresivnih pacijenata nego kod zdravih kontrola. U studiji Howren-a i sar. (2009) je također pokazano da koncentracije IL-1 i IL-6 pozitivno koreliraju sa depresijom.

## 2. RADNA HIPOTEZA

- Koncentracija citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) je značajno veća u akutnoj fazi shizofrenije nego u fazi remisije kao i u poredjenju sa depresivnim pacijentima
- Postoji povezanost između koncentracija citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) i psihopatoloških korelata shizofrenije, početka bolesti, dužine lečenja i dužine bolesti.

## 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- Odrediti razlike u koncentraciji IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti i u fazi remisije
- Odrediti razlike u koncentraciji IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti i u fazi remisije i uporediti sa kontrolnom grupom depresivnih pacijenata
- Ispitati povezanost koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  sa početkom bolesti, periodom nelečenosti, dužinom lečenja i dužinom bolesti među obolelima od shizofrenije i depresije
- Ispitati povezanost koncentracija IL-6 i TNF- $\alpha$  i psihopatoloških korelata shizofrenije (nivoa opšte psihopatologije, intenziteta pozitivnih i negativnih simptoma)

#### **4. MATERIJAL I METODE**

Studija je dizajnirana kao prospektivna studija. Istraživanje je obavljeno na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije i Institutu za medicinsku biohemiju Medicinskog fakulteta u Beogradu u periodu od 2010. do 2011. godine. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu na sednici održanoj 15.7.2010. godine, kao i Direktora Klinike za psihijatriju Kliničkog Centra Srbije.

##### **Uzorak**

Uzorak je inicijalno činilo ukupno 90 ispitanika, podeljenih u dve grupe - studijska grupa (S) i kontrolna grupa (K). Studijsku grupu (S) činilo je ukupno 53 pacijenata koji su se nalazili na bolničkom lečenju na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije, a dijagnostikovani su prema kriterijumima MKB-10 (Medjunarodna klasifikacija bolesti-10) kao shizofrenija (F20). Od ukupno 53 pacijenta obolela od shizofrenije, koji su inicijalno uključeni u istraživanje, 10 pacijenata je isključeno zbog nepostizanja remisije ili odustajanja od lečenja usred nekomplijantnosti, te je finalni uzorak S grupe činilo 43 pacijenta obolela od shizofrenije. Pacijenti studijske grupe su posmatrani u dve različite faze bolesti: u akutnoj fazi (T1), kao studijska grupa 1 (S-1) i u fazi inicijalne remisije (T2) nakon prosečno 6 nedelja, kao studijska grupa 2 (S-2). Smanjenje na Skali za procenu pozitivnog i negativnog sindroma shizofrenije (PANSS skala) (Kay, 1978) za  $\leq 50\%$  smatrano je da je remisija postignuta. Studijska i kontrolna grupa su bile uskladjene prema



polu (muški/ženski), pušačkom statusu (pušač/nepušač) i prebivalištu (iz Beograda/van Beograda).

Kriterijumi za uključivanje u studiju su bili: starosna dob pacijenta od 18 do 60 godina; dužina trajanja psihijatrijske bolesti najmanje 2 godine; odsustvo težeg akutnog ili hroničnog somatskog oboljenja; odsustvo trudnoće i laktacije.

Kriterijumi za isključenje iz studije su bili: postojanje komorbiditeta sa alkoholizmom i zloupotrebom psihoaktivnih supstanci; postojanje mentalne retardacije; postojanje demencije; pušenje (više od 20 cigareta dnevno).

Kontrolnu grupu (K) činilo je 37-oro pacijenata koji su se nalazili na bolničkom lečenju na Klinici za psihijatriju KCS, a dijagnostikovani su prema kriterijumima MKB-10 kao rekurentni depresivni poremećaj (F33.0)

Kriterijumi za uključivanje u kontrolnu grupu su bili: ponovljene depresivne epizode bez prethodnih epizoda povišenog raspoloženja i preterane aktivnosti; skor na Hamiltonovoj skali za procenu depresivnosti (HAMD) (Hamilton,1960) između 17-24 (umerena depresija); odsustvo težeg akutnog ili hroničnog somatskog oboljenja; odsustvo trudnoće i laktacije.

Kriterijumi za isključivanje iz kontrolne grupe: postojanje komorbiditeta sa alkoholizmom i zloupotrebom psihoaktivnih supstanci; postojanje mentalne retardacije; postojanje demencije; pušenje (više od 20 cigareta dnevno).

Finalni uzorak je činilo ukupno 80 pacijenata (43 obolela od shizofrenije i 37 obolelih od depresije). Uključeni su samo pacijenti koji unazad minimum 4 nedelje nisu bili na terapiji, i čije je pogoršanje usledilo zbog terapijske nekomplijantnosti.

## **Instrumenti procene**

Na početku ispitivanja, primenom polustrukturisanog psihijatrijskog upitnika od pacijenata su uzimani podaci relevantni za istraživanje i to: kompletni sociodemografski podaci o pacijentu (pol, starost, prebivalište, bračni status, broj dece, stručna sprema, radni status); podaci o prethodnom lečenju (broj hospitalizacija, godine početaka bolesti, godine početka lečenja; dužina ukupnog lečenja, ukupna dužina bolesti, period nelečenosti); podaci o prethodno primenjivanoj terapiji (grupe lekova koje su korišćene u prethodnom tretmanu, aktuelno praćenje terapije); podaci o navikama (pušenje, zloupotreba alkohola i psihoaktivnih supstanci); sklonost ka autoagresiji i/ili heteroagresiji (postojanje suicidalnog rizika, postojanje homicidalnog rizika); podaci o hereditetu.

Pored navedenih podataka koji su uzimani od pacijenta klasičnim psihijatrijskim intervjuom, podaci su uzimani i od članova porodice (heteroanamneza) uz pravljenje uvida u kompletnu prethodnu medicinsku dokumentaciju. Pre uključivanja u istraživanje obavljen je i kompletan neurološki i fizikalni pregled.

### **Skale procene psihičkog funkcionisanja:**

#### **Skala za procenu pozitivnog i negativnog sindroma shizofrenije (PANSS - Kay, 1987)**

Za ocenu i kliničko praćenje toka shizofrenije i farmakoterapijskog odgovora najčešće se koristi PANSS skala. PANSS skala se sastoji od tri podskale: pozitivna skala sadrži 7 tvrdnji (sumanutosti, pojmovna dezorganizacija, halucinatorno ponašanje, uznemirenost,

grandioznost, sumnjičavost i hostilnost) koji se ocenjuju vrednostima od 1 (odsustvo) do 7 (ekstremno). Negativna skala sadrži takodje 7 tvrdnji (zaravnjen afekat, emocionalno povlačenje, defekt emocionalne rezonance, pasivno/apatično socijalno povlačenje, teškoće u apstraktnom mišljenju, nedostatak spontanosti i fluentnosti konverzacije i stereotipno mišljenje) koji se ocenjuju vrednostima od 1 (odsustvo) do 7 (ekstremno). Maksimalni skor na ovim skalama je 49. Skala opšte psihopatologije sadrži 16 tvrdnji (briga za telesno zdravlje, anksioznost, osećanje krivice, napetost, manirizmi i držanje, depresija, motorna usporenost, nekooperativnost, neobični misaoni sadržaji, dezorijentacija, slabost pažnje, nedostatak rasudjivanja i uvida, poremećaj volje, slabost kontrole impulsa, preokupacija sobom, aktivno izbegavanje socijalnih kontakata) i prezentuje strukturu kliničke slike. Poredjenje vrednosti dobijenih na pojedinim subskalama, uz izdvajanje simptoma ocenjenih sa većim brojem poena na pozitivnoj i negativnoj skali daje uvid u osnovnu strukturu podtipa shizofrenije i omogućava praćenje terapijskih efekata lekova u kraćim ili dužim vremenskim intervalima.

### **Opšti klinički utisak (CGI - Beneke et al. 1992)**

Kroz ovu skalu se procenjuje i prati poboljšanje stanja u toku lečenja ili ispitivanja nekog leka. Skala uključuje i eventualno postojanje neželjenih dejstava leka ukoliko se radi o nekom kliničko-farmakološkom ispitivanju i proceni uticaja neželjenih efekata na opšte stanje, funkcionisanje bolesnika i na postignute efekte primenjenog leka. Skala se sastoji iz četiri dela: težina bolesti i ukupno poboljšanje (tvrdnje se procenjuju na sedmostepenoj skali od nije bolestan (0) do krajnje teško bolestan (7); odnosno od izrazito poboljšano (1)

do izrazito pogoršano (7). Druga dva dela skale podrazumevaju terapijski efekat (skorovi od 1-5) i neželjena dejstva (skorovi od 1-4) i koriste se za formiranje indexa efikasnosti (CGI-e) gde se na posebno konstruisanoj tabeli tim indeksom određuje uspešnost primenjene terapije. Upitnik se popunjava odmah po završetku intervjua sa pacijentom. Primenjuje se pre početka lečenja, a zatim se u određenim vremenskim razmacima do završetka tretmana kada se popunjava završna procena.

### **Hamiltonova skala za procenu depresivnosti (HAMD – Hamilton, 1960)**

Hamiltonova skala za procenu depresivnosti je široko rasprostranjena u kliničkom radu. Navedenom skalom se ne postavlja dijagnoza depresivnosti, već se primenjuje kod već dijagnostikovanih bolesnika čiji je intezitet simptoma potrebno kvantifikovati. Ukupni skor Hamiltonove skale (21 tvrdnja) određuje na sledeći način težinu depresivnosti: 0-7 bez depresivnosti; 17-24 umerena depresivnost; manje od 8 depresivnost nije prisutna. Skala je individualna i popunjava je ispitivač.

### **Procedura**

Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Kodeksom dobre naučne prakse Medicinskog fakulteta u Beogradu. Pre početka istraživanja svi ispitanici su dali pisani pristanak za učešće u studiji.

Ispitanicima studijske grupe je vadjena krv dan nakon prijema u bolnicu (faza akutnog pogoršanja -T1) i nakon prosečno 6 nedelja (inicijalna faza remisije - T2), dok je

ispitanicima kontrolne grupe krv vadjena jednokratno dan nakon prijema, na Klinici za psihijatriju KCS. Određivanje koncentracije IL-6 i TNF-  $\alpha$  (ELISA tehnikom) obavljeno je na Institutu za medicinsku biohemiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Primena polustrukturisanog upitnika, heteroanamneza, uvid u kompletnu prethodnu medicinsku dokumentaciju, kao i kompletan neurološki i fizikalni pregled su obavljani na početku lečenja, prilikom prijema na odeljenje, uz procenu psihopatologije koja je vršena pomoću navedenih skala. Nakon prosečno 6 nedelja kod subjekata studijske grupe vršena je procena psihopatologije pomoću PANSS skale i ukoliko je došlo do umanjavanja simptomatologije sa prijema za  $\leq 50\%$  uz objektivno sagledavanje kliničke slike i praćenje terapijskog protokola smatrano je da je remisija postignuta, i takvi pacijenti su uključeni u dalju proceduru određivanja vrednosti citokina. Polustrukturisani upitnik, heteroanamneza, uvid u kompletnu medicinsku dokumentaciju, kao i neurološki i fizikalni pregled sprovedeni su i među ispitanicima iz kontrolne grupe, dok je stepen depresivnosti određivan preko HAMD skale.

### **Uzimanje uzorka i određivanje koncentracije citokina**

Devet mililitara krvi je uzimano pacijentima između 8 i 9 časova u epruvetama za izdvajanje seruma. Krv je ostavljena 1h na sobnoj temperaturi da koaguliše nakon čega je centrifugirana na  $+4^{\circ}\text{C}$  15 minuta na 3000 rpm. Nakon navedene procedure je bio izdvojen serum i alikvotiran u mikrotube koje su do određivanja koncentracije citokina bile čuvane na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Za određivanje koncentracije TNF alfa i IL-6 u serumu korišćena je ELISA

(*Enzyme linked immunosorbent assay*) tehnika i to komercijalni kitovi (Bio Legend ELISA MAX Deluxe Sets, Bio Legend, San Diego, CA). Vrednost citokina je određivana u duplikatu nakon konstruisanja standardne krive korišćenjem standardnih rastvora iz kita.

## **Varijable u istraživanju**

### **Zavisne varijable:**

- koncentracija IL6 i TNF- $\alpha$  (pg/ml); operativna dijagnostika biće vršena preko metoda određivanja koncentracija ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*) tehnikom

### **Nezavisne varijable:**

- prisustvo shizofrenije/depresije; operativna dijagnostika biće vršena na osnovu kriterijuma MKB-10
- faza bolesti
- broj hospitalizacija; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju
- godine početka bolesti; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju
- godine početka lečenja; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju
- dužina ukupnog lečenja; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju
- ukupna dužina bolesti; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju

- period nelečenosti; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom, heteroanamnezom, uvidom u medicinsku dokumentaciju
- intenzitet simptoma (nivo opšte psihopatologije, pozitivni i negativni simptomi; depresivni poremećaj, povlačenje, motorna usporenost, poremećaj mišljenja, agitacija, uzbudjenost, uznemirenost, agresivnost, paranoidnost; težina bolesti, ukupno poboljšanje, terapijski efekat i neželjena dejstva leka, deprimiranost, osećaj krivice, suicid, rana insomija, tokom noci i kasna, rad i aktivnost, agitacija, psihicka anksioznost, somatska anksioznost, somatski gastrointestinalni simptomi, genitalni simptomi, hipohondrija, gubitak telesne mase, sposobnost uvida, dnevne varijacije raspoloženja, depersonalizacija i derealizacija, paranoidnost, opsesivno-kompulzivni simptomi) operativna dijagnostika biće vršena skalama PANSS, HAMD, CGI
- tip antipsihotika/antidepresiva; prema protokolu lečenja;

#### **Kontrolne varijable:**

- sociodemografske varijable; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom;
- pušački status; operativna dijagnostika biće vršena opštim upitnikom

#### **Statistička analiza**

Za potrebe istraživanja baza podataka kreirana je Microsoft Office Excell for Windows 2007, a analiza podataka bila je sprovedena softverskim paketom Statistical Package for Social Sciences - SPSS for Windows v. 19.0 (SPSS Inc. Chicago, IL). Normalnost

distribucije numeričkih obeležja bila je ispitana Kolmogorov-Smirnov-ovim testom. Za opis varijabli bile su korišćene klasične metode deskriptivne statistike, u zavisnosti od prirode podataka (mere centralne tendencije- srednja vrednost; mere varijabiliteta- standardan devijacija). Za varijable za koje je Kolmogorov-Sminov-ovim testom bilo utvrđeno da postoji raspodela različita od normalne bili su korišćeni neparametarski testovi.

Za analizu podataka bili su korišćene sledeće univarijantne statističke metode:

a) ukoliko je raspodela normalna: T test za nezavisne uzorke,

b) ukoliko raspodela nije normalna ili se radi o ordinalnim varijablama:  $\chi^2$  test,  $\chi^2$  test sa korekcijom neprekidnosti prema Jejsu, Fisher-ov tačan pokazatelj verovatnoće, Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, Mann-Whitny-ev test sume rangova, Spearman-ov koeficijent korelacije ranga.



## 5. REZULTATI

### 5.1. Sociodemografske karakteristike uzorka

Radi postizanja veće homogenosti uzorka, pacijenti su bili mečovani prema polu ( $\chi^2 = 0.023$ ;  $p=0.898$ ), prebivalištu ( $\chi^2 = 0.280$ ;  $p=0.596$ ) i pušačkom statusu ( $\chi^2 = 0.003$ ;  $p=0.960$ ).

Studijsku grupu (S) činilo je ukupno 43 pacijenta obolela od shizofrenije (28 žena i 25 muškaraca), dok je kontrolnu grupu (K) depresivnih pacijenata činilo ukupno 37 pacijenata (21 žena i 16 muškaraca). Nije postojala statistički značajna razlika u polnoj distribuciji ( $\chi^2=0.554$ ;  $p=0.457$ ).

Prosečna starost shizofrenih pacijenata (S) bila je  $36.30 \pm 9.60$  godina, a depresivnih (K)  $52.59 \pm 9.18$  godina. Depresivni pacijenti (K) su bili statistički značajno stariji od obolelih od shizofrenije (S) ( $U=230.00$ ;  $z=-0.203$ ;  $p=0.000$ ).

Nadjena je statistički značajna razlika u odnosu na bračni status medju ispitivanim grupama ( $\chi^2 = 30.022$ ;  $p=0.000$ ), obrazovanje ( $\chi^2 = 18.631$ ;  $p=0.001$ ) i tome da li su se ostvarili kao roditelji ( $\chi^2 = 23.861$ ;  $p=0.000$ ).

Nije nadjena statistički značajna razlika u odnosu na radni status ( $\chi^2 = 0.145$ ;  $p=0.930$ ) i indeks telesne mase ( $t=0.770$ ;  $p=0.444$ ) medju ispitivanim grupama.

Nije utvrđena statistički značajna razlika između studijske i kontrolne grupe u broju pušača i nepušača uključenih u uzorak ( $\chi^2=0.000$ ;  $p=1.000$ )

Na Tabeli 2. prikazane su socio-demografske karakteristike ispitanika.

**Tabela 2.** Socio-demografske karakteristike ispitanika

Varijabla	Studijska grupa (S)	Kontrolna grupa (K)
	Shizofrenija (N=43)	Depresija (N=37)
<b>Pol</b> (% , N)		
Ženski	52.8% (28)	56.8% (21)
Muški	47.2% (25)	43.2% (16)
<b>Starost</b> (X±SD godine)	36.30 ± 9.60	52.59 ± 9.18
<b>Bračno stanje</b> (%)		
Sam/a	66.0%	10.8%
Neformalna zajednica	5.7%	2.7%
U braku	17.0%	56.8%
Razveden/a	9.4%	24.3%
Udovac/a	1.9%	5.4%
<b>Deca</b> (%)		
Ima dece	32.1%	86.5%
Nema dece	67.9 %	13.5%
<b>Stručna sprema</b> (%)		
Osnovna škola	5.7%	29.7%
Srednja škola	64.2%	54.1%
Viša škola	3.8%	13.5%
Fakultet	17.0%	2.7%
Student	9.4%	0%
<b>Radni status</b> (%)		
Zaposlen	24.5%	27.0%
Nezaposlen	66.0%	62.2%
Penzioner	9.4%	10.8%
<b>Mesto prebivališta</b> (%)		
Iz Beograda	56.6%	48.6%
Nije iz Beograda	43.4%	51.4%
<b>Indeks telesne mase</b> (kg/m <sup>2</sup> )	22.70 ± 1.57	22.46 ± 1.16
<b>Pušenje</b>		
Ne	34.6%	35.1%
Da	65.4%	64.9%

## 5.2. Kliničke karakteristike uzorka

Statistički značajne razlika nije utvrđena između shizofrenih i depresivnih pacijenata u broju hospitalizacija ( $U=804.500$ ;  $z=-1.475$ ;  $p=0.140$ ). Nema statistički značajne razlike između navedenih grupa pacijenata ni u dužini lečenja ( $U=793.500$ ;  $z=1.540$ ;  $p=0.124$ ).

Nadjena je statistički značajna razlika između studijske i kontrolne grupe u starosti u vreme pojave prvih tegoba ( $U=224.000$ ;  $z=-5.892$ ;  $p=0.000$ ). Pacijentima obolelim od shizofrenije znatno ranije dolazi do pojave bolesti.

Utvrđena je statistički značajna razlika između shizofrenih i depresivnih pacijenata u starosti u vreme početka lečenja ( $U=331.000$ ;  $z=-5.331$ ;  $p=0.000$ ). Pacijenti oboleli od shizofrenije znatno mlađji počinju sa lečenjem.

Postoji statistički značajna razlika između navedenih grupa pacijenata u periodu nelečenosti ( $U=331.500$ ;  $z=-4.758$ ;  $p=0.000$ ). Pacijenti oboleli od depresije imaju značajno duži period nelečenosti nego oboleli od shizofrenije.

Nadjena je statistički značajna razlika između dve navedene grupe u pogledu ukupne dužine bolesti, u smislu da depresivni pacijenti imaju veću ukupnu dužinu trajanja bolesti ( $t=-2.597$ ;  $p=0.011$ ), kao i da pacijenti ženskog pola ukupno duže boluju ( $t=-2.220$ ;  $p=0.033$ ).

Nadjena je statistički značajna razlika između shizofrenih i depresivnih pacijenata u pogledu herediteta, u smislu da je nešto češći kod obolelih od shizofrenije ( $\chi^2=4.616$ ;  $p=0.032$ ). Dalje, nadjena je značajnost vezana za suicidalnost ( $\chi^2=3.920$ ,  $p=0.048$ ) i homicidalnost ( $p=0.019$ ) u smislu veće učestalosti kod obolelih od shizofrenije (Tabela 3.)

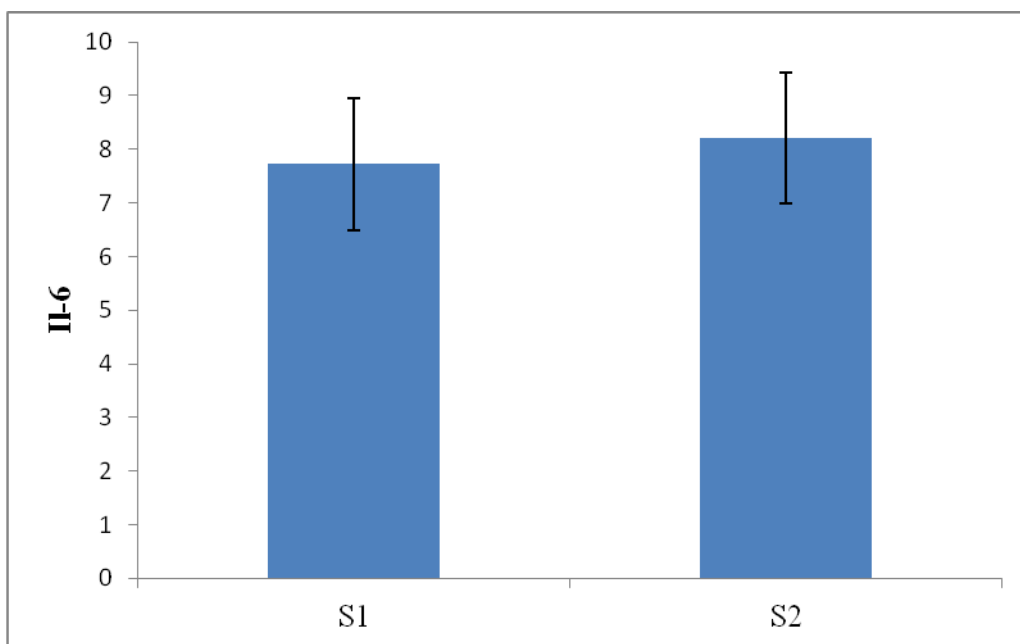
**Tabela 3.** Kliničke karakteristike uzorka

Varijabla	Studijska grupa (S1)	Studijska grupa (S2)	Kontrolna grupa (K)
Broj hospitalizacija (X±SD)	3.00 ± 2.63	-	3.81 ± 2.99
Godine početka bolesti (X±SD)	24.69 ± 4.20	-	37.32 ± 10.49
Godine početka lečenja(X±SD)	28.00 ± 7.54	-	42.00 ± 13.52
Godine ukupnog lečenja (X±SD)	7.92 ± 7.86	-	10.32 ± 9.22
Ukupna dužina bolesti (X±SD)	10.42 ± 7.95	-	15.30 ± 8.31
Period nelečenosti (X±SD)	1.78 ± 3.20	-	4.78 ± 4.74
Hereditet (da, N)	26	-	9
Suicidalnost (da,N)	20	-	6
Homicidalnost (da, N)	8	-	0
<b>PANSS (X±SD)</b>			
Pozitivna	28.86 ± 9.97	11.67 ± 3.08	-
Negativna	24.74 ± 9.33	14.00 ± 5.56	-
Opšta psihopatologija	58.79 ± 15.59	28.58 ± 10.62	-
Total skor	112.42 ± 27.90	54.25 ± 16.64	-
<b>CGI (X±SD)</b>			
CGI-S	5.23 ± 1.38	-	-
CGI-I	1.79 ± 0.80	-	-
CGI-E	1.77 ± 0.78	-	-
HAMD (X±SD)	-	-	22.27 ± 1.30

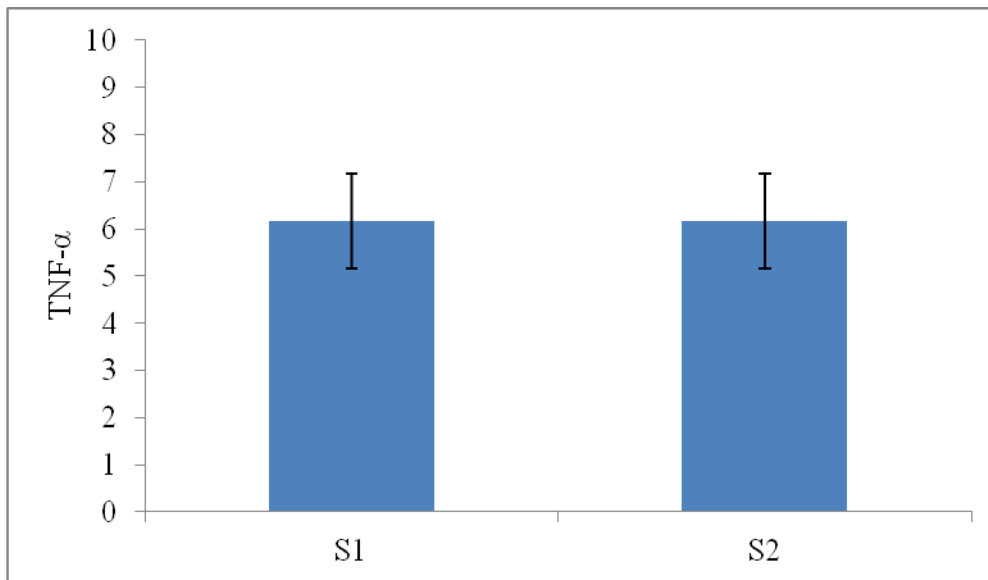
### 5.3. Nivoi citokina kod pacijenata obolelih od shizofrenije (akutna faza vs. remisija)

Nije nadjena statistički značajna razlika u serumskim koncentracijama IL-6 (pg/ml) izmedju akutne faze shizofrenije (S1) i remisije (S2) ( $U=853.500$ ;  $z= -0.613$ ;  $p=0.540$ ). Takodje, serumski nivoi TNF- $\alpha$  (pg/ml) se nisu razlikovali izmedju akutne faze i remisije ( $U=910.000$ ;  $z= -0.125$ ;  $p=0.900$ ) medju pacijentima studijske grupe.

**Grafik 1.** Serumske koncentracije IL-6 (pg/ml) u grupi obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi (S1) i fazi remisije (S2)



**Grafik 2.** Serumske koncentracije TNF- $\alpha$  (pg/ml) u grupi obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi (S1) i fazi remisije (S2)



#### **5.4. Nivoi citokina kod shizofrenih pacijenata u akutnoj fazi i fazi remisije u poredjenju sa nivoima citokina kod depresivnih pacijenata**

Statistička značajnost nije nadjena u nivou TNF- $\alpha$  izmedju shizofrenih pacijenata u akutnoj fazi bolesti (S1) i depresivnih kontrola ( $U=775.500$ ;  $z=-0.193$ ;  $p=0.847$ ). Nije nadjena ni statistička značajnost u nivou IL-6 izmedju shizofrenih pacijenata u akutnoj fazi bolesti (S1) i depresivnih kontrola ( $U=722.500$ ;  $z=-0.704$ ;  $p=0.481$ ).

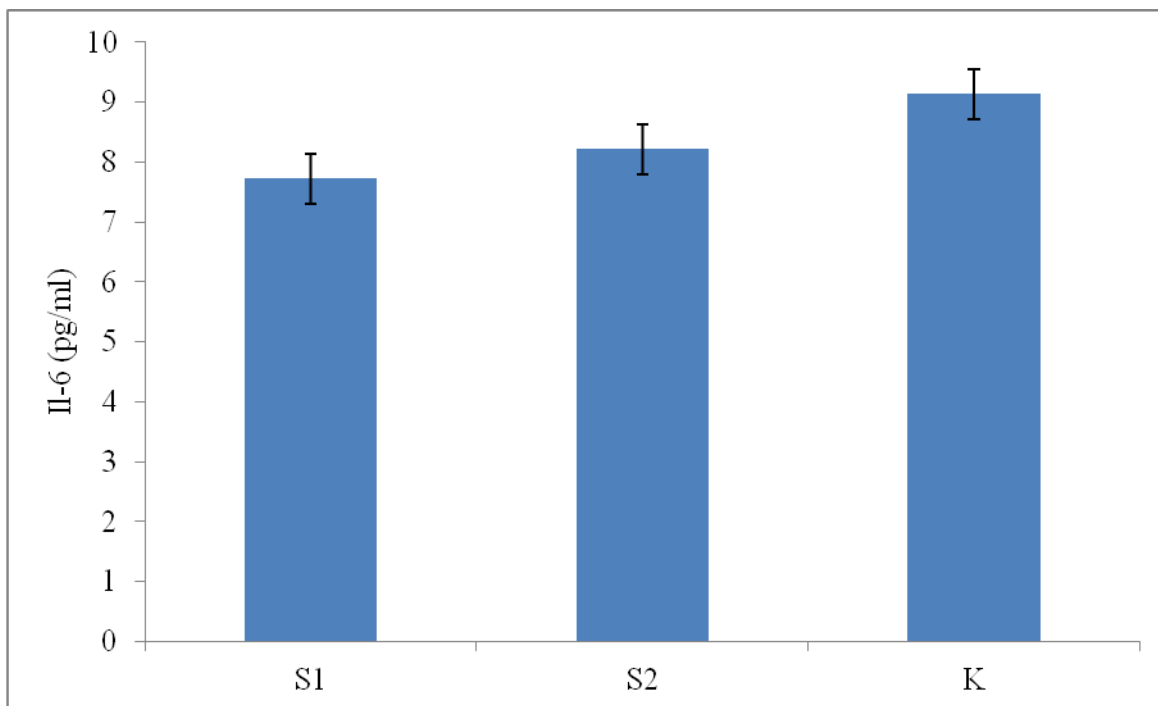


Serumske koncentracije TNF- $\alpha$  (U=772.500; z=-0.227; p=0.821) i IL-6 (U=774.500; z=-0.203; p=0.839) se nisu razlikovale izmedju shizofrenih pacijenata u fazi remisije (S2) i depresivnih pacijenata.

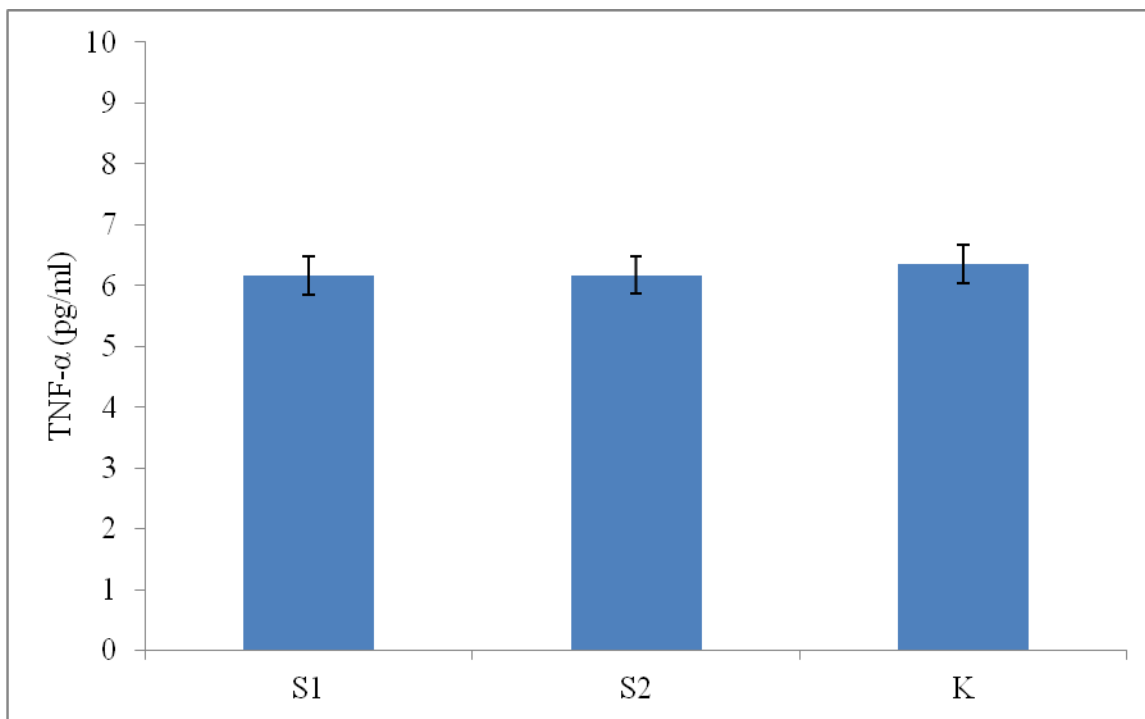
**Tabela 4.** Serumske koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  (pg/ml) kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi (S1) i fazi remisije (S2) i nivoi citokina u kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata (K) u akutnoj fazi

<b>Varijabla</b>	<b>Studijska grupa – Akutna faza (S1)</b>	<b>Studijska grupa- Remisija (S2)</b>	<b>Kontrolna grupa (K)</b>
<b>IL-6</b> (pg/ml)	7.72±7.52	8.21±6.83	9.13±10.05
(Raspon)	(1.20-39.00)	(1.20-34.27)	(1.80-53.52)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/ml)	6.16±3.44	6.17±3.10	6.35±4.28
(Raspon)	(2.00-16.16)	(2.00-12.24)	(2.00-22.46)

**Grafik 3.** Serumske koncentracije IL-6 (pg/ml) kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi (S1) i fazi remisije (S2) i u kontrolnoj grupi depresivnih (K).



**Grafik 4.** Serumske koncentracije TNF- $\alpha$  (pg/ml) kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi (S1) i fazi remisije (S2) i u kontrolnoj grupi depresivnih (K).



### 5.5. Korelacije IL-6 i TNF- $\alpha$ u ispitivanim grupama

Nadjena je pozitivna korelacija izmedju vrednosti TNF- $\alpha$  u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi kod ispitanika iz studijske grupe ( $\rho=0.722$ ;  $p=0.000$ ), kao i pozitivna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i akutnoj fazi kod istih ispitanika ( $\rho=0.687$ ;  $p=0.000$ ).

Nadjena je negativna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi kod pacijenata iz studijske grupe ( $\rho= -0.440$ ;  $p=0.003$ ).

Nadjena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi u kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata ( $\rho=0.398$ ;  $p=0.015$ )

**Tabela 5.** Koeficijenti korelacije IL-6 i TNF-alfa u ispitivanim grupama

		Studijska grupa – Akutna faza (S1)		Studijska grupa- Remisija (S2)		Kontrolna grupa (K)	
		IL-6	TNF	IL-6	TNF	IL-6	TNF
<b>S1</b>	IL-6		-0.081	0.687*	-0.028	-0.077	-0.106
	TNF			-0.440*	0.722*	0.291	0.496*
<b>S2</b>	IL-6				-0.295	-0.032	-0.369*
	TNF					0.227	0.573*
<b>K</b>	IL-6						0.398*
	TNF						

\* $p<0.05$

### 5.6. Citokini i pol, starost, indeks telesne mase, pušenje

Nije nadjena statistički značajna povezanost izmedju pola i nivoa IL-6 i TNF- $\alpha$  u ispitivanom uzorku ( $p>0.05$ ). Starost, indeks telesne mase i pušenje nisu uticali na nivoe IL-6 i TNF- $\alpha$  u ispitivanom uzorku ( $p>0.05$ ).

## 5.7. Korelacija citokina sa ispitivanim kliničkim korelatima

Nadjena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i broja hospitalizacija u grupi obolelih od shizofrenije ( $\rho=0.312$ ;  $p=0.042$ ) i skoro statistički značajna razlika izmedju IL-6 u remisiji i ukupne dužine bolesti kod obolelih od shizofrenije ( $\rho=0.307$ ;  $p=0.060$ ).

U kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata nadjene su sledeće pozitivne korelacije: izmedju IL-6 i dužine lečenja ( $\rho=0.394$ ;  $p=0.016$ ) i ukupne dužine bolesti ( $\rho=0.434$ ;  $p=0.007$ ) i izmedju TNF- $\alpha$  i perioda nelečenosti ( $\rho=0.422$ ;  $p=0.009$ ).

Utvrđena je skoro značajna pozitivna korelacija izmedju IL-6 u remisiji kod obolelih od shizofrenije i subskale opšte psihopatologije u akutnoj fazi ( $p=0.079$ ). Nije utvrđena povezanost izmedju vrednosti ispitivanih citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) i vrednosti na nekoj od subskala PANSS-a, kako u akutnoj fazi, tako ni u fazi remisije.

Kada smo ispitivali delta IL-6 (promenu IL-6) nadjeno je da postoji negativna korelacija sa pozitivnom subskalom PANSS-a u akutnoj fazi u studijskoj grupi ( $\rho= -0.383$ ;  $p=0.011$ ), tj. da je veća promena IL-6 kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti na pozitivnoj subskali PANSS-a u akutnoj fazi.

Nije nadjena povezanost ispitivanih citokina kod obolelih od shizofrenije (ni u jednoj od faza bolesti) sa vrednostima na CGI skali ( $p>0.05$ ). Nije nadjena povezanost izmedju IL-6 i

skora na HAMD skali kod obolelih od depresije ( $\rho=-0.269$ ;  $p=0.108$ ) kao ni izmedju TNF- $\alpha$  i skora na HAMD skali ( $\rho=0.059$ ;  $p=0.727$ ).

Godine kada je pacijent započeo lečenje su negativno korelirale sa vrednostima na subskali opšte psihopatologije u akutnoj fazi kod pacijenata S grupe ( $\rho=-0.313$ ;  $p=0.041$ ) i ukupnom vrednošću PANSS-a ( $\rho=-0.336$ ;  $p=0.028$ ). Nadjena je skoro značajna negativna korelacija izmedju godina i ukupne vrednosti PANSS u akutnoj fazi kod obolelih od shizofrenije ( $\rho=-0.291$ ;  $p=0.058$ ). Nadjena je negativna korelacija izmedju negativne subskale PANSS u akutnoj fazi kod pacijenata S grupe i njihovih godina ( $\rho=-0.443$ ;  $p=0.003$ ) kao i godina kada su započeli tretman ( $\rho=-0.312$ ;  $p=0.041$ ).

**Tabela 6. Koeficijenti korelacije IL-6 i TNF- $\alpha$  sa pojedinim kliničkim varijablama**

	Studijska grupa – Akutna faza (S1)		Studijska grupa- Remisija (S2)		Kontrolna grupa (K)	
	IL-6	TNF	IL-6	TNF	IL-6	TNF
<b>Broj hospitalizacija</b>	0.021	-0.251	0.312*	-0.121	0.250	-0.224
<b>Dužina nelečenosti</b>	-0.141	-0.019	0.097	0.100	0.107	0.422*
<b>Dužina lečenja</b>	0.156	0.053	0.251	-0.067	0.486*	0.136
<b>Ukupna dužina bolesti</b>	0.186	-0.226	0.307*	-0.081	0.434*	0.139

\* $p<0.05$

## 6. DISKUSIJA

Aktuelno istraživanje obihvatilo je ukupno 80 pacijenata, obolelih od shizofrenije koji su posmatrani kao studijska grupa i praćeni su u dve faze bolesti (akutna vs. remisija) i depresivne pacijente koji su činili kontrolnu grupu. Pacijenti su mećovani prema polu, pušačkom statusu i prebivalištu radi postizanja homogenosti uzorka. Nije nadjena razlika u serumskim nivoima IL-6 i TNF- $\alpha$  izmedju akutne faze i remisije u studijskoj grupi, kao ni razlika u ispitivanim citokinima izmedju shizofrenih i depresivnih pacijenata, bez obzira na fazu bolesti. Interesantno je da su nadjene pozitivne korelacije izmedju vrednosti TNF- $\alpha$  u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi i izmedju IL-6 u fazi remisije i akutnoj fazi kod ispitanika studijske grupe, kao i pozitivna korelacija izmedju IL-6 i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi u kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata. Negativna korelacija nadjena je izmedju IL-6 u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi kod pacijenata iz studijske grupe.

U pogledu kliničkih varijabli koje su praćene nadjene su izvesne razlike, te je kod pacijenata obolelih od shizofrenije znatno ranije dolazilo do pojave bolesti i znatno su mlađji zapoćinjali sa lećenjem. Dok su pacijenti kontrolne grupe imali znaćajno duži period nelećenosti u odnosu na obolele od shizofrenije i veću ukupnu dužinu trajanja bolesti. Hereditet, suicidalnost i homicidalnost su bili češći kod shizofrenih pacijenata u odnosu na depresivne.

Nadjene su statistički znaćajne povezanosti izmedju ispitivanih citokina i kliničkih varijabli. Utvrđjena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i broja hospitalizacija u grupi obolelih od shizofrenije i skoro znaćajna korelacija izmedju IL-6 u remisiji i ukupne dužine bolesti kod obolelih od shizofrenije. U kontrolnoj grupi

depresivnih pacijenata nadjene su sledeće pozitivne korelacije: izmedju IL-6 i dužine lečenja i ukupne dužine bolesti, kao i izmedju TNF- $\alpha$  i perioda nelečenosti. Utvrđena je skoro značajna pozitivna korelacija izmedju IL-6 u remisiji kod obolelih od shizofrenije i subskale opšte psihopatologije u akutnoj fazi. Sama „promena“ IL-6 (delta IL-6) negativno korelira sa pozitivnom subskalom PANSS-a u akutnoj fazi u studijskoj grupi, što znači da je veća promena IL-6 kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti na pozitivnoj subskali PANSS-a u akutnoj fazi. Nije nadjena povezanost ispitivanih citokina kod obolelih od shizofrenije (ni u jednoj od faza bolesti) sa vrednostima na CGI skali. Nije nadjena povezanost vrednosti koncentracija ispitivanih citokina kod obolelih od depresije i skora na HAMD skali.

### **Imunološke alteracije u shizofreniji i depresiji**

Promene u nivou različitih citokina (IL-6, IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, INF- $\gamma$  itd) i njihovih receptora u plazmi, serumu i cerebrospinalnom likvoru su zapažene kod obolelih od shizofrenije i depresije (Schmitt et al. 2005; Brambilla & Maggioni, 1998; Capuron & Miller, 2004; Carpenter et al., 2004; Howren et al., 2009; Dowlati et al., 2010; Kagaya et al., 2001; Rothermundt et al., 2001a; Ushiroyama et al., 2002). Medjutim, iako su istraživanja nekonzistentna i često oprečna, IL-6 i TNF- $\alpha$  se najfrekventnije dovode u vezu sa ova dva oboljenja (Dowlati et al. 2010, Basterzi et al., 2005; Frommberger et al., 1997; Słuzewska et al., 1995).

U našem istraživanju, nismo našli razliku u serumskim koncentracijama IL-6 i TNF- $\alpha$  izmedju akutne faze i remisije kod obolelih od shizofrenije, kao ni razliku izmedju



shizofrenije i depresije bez obzira na fazu bolesti. Ovakav nalaz je značajan, jer pregledom dosadašnje literature, mali broj radova je poredio citokine u ovim oboljenjima i u odnosu na fazu bolesti.

Müller i sar. (1999) su predložili hipotezu o Th-1-Th-2 disbalansu, sugerišući da je ovaj balans poremećen u korist „prevage“ Th-2 imunog odgovora kod obolelih od shizofrenije. Povećana aktivnost Th-2 sistema kod shizofrenije ogledala se kroz povećanje interleukina (IL)-6, solubilnog interleukin-6 receptora (sIL-6R) (Frommberger et al. 1997; Ganguli et al. 1994; Maes et al. 1994; Müller & Ackenheil, 1997; Na&Kim, 2007), povećanog interleukina-10 (IL-10) (Cazzullo et al. 1998), i interleukina-4 (IL-4) u cerebrospinalnom likvoru mladih shizofrenih pacijenata (Mittleman et al. 1997; Na&Kim, 2007). Međutim, velika kvantitativna analiza Potvina i sar. (2008) se nije složila sa predloženim konceptom Th-1/Th-2 disbalansa. Povišene vrednosti IL-6 kod obolelih od shizofrenije su zapažene u mnogim studijama (Frommberger et al. 1997; Gangluli et al. 1994; Naudin et al. 1997; Zhang et al. 2002). Tako, povišenje serumskih koncentracija IL-6 je nadjeno u akutnoj fazi bolesti (Frommberger et al. 1997), ali i kod pacijenata sa hroničnom, rezidualnom formom shizofrenije (Akiyama, 1999; Zhang et al. 2002). Sa druge strane, neke studije nisu našle razliku ili su čak našle smanjenje IL-6 medju pacijentima koji nikada nisu koristili antipsihotičku terapiju (Baker et al., 1996; Kim et al., 2000; Singh et al., 2009; Xu et al., 1994). Frommberger i sar. (1997) su našli povećanje plazma koncentracija IL-6 u akutnoj fazi bolesti, kao i smanjivanje vrednosti ispitivanog citokina u fazi remisije u odnosu na zdrave kontrole. Slično, Pae i sar. (2006), nalaze smanjivanje koncentracija IL-6 osam nedelja nakon tretmana antipsihoticima. Ipak, većina istraživanja govori u prilog povišenim koncentracijama IL-6 u akutnoj egzacerbaciji bolesti, ali i redukciji vrednosti u remisiji

(Frommberger et al. 1997, Pae et al. 2006), predpostavljajući da IL-6 može biti i “state” marker samog akutnog pogoršanja (Naudin et al. 1997). Što se tiče rezultata koji se odnose na promene nivoa TNF- $\alpha$  kod obolelih od shizofrenije, studije su mnogo manje uniformne, te su tako nadjena povećanja, smanjenja, pa čak i neizmenjene vrednosti navedenog citokina, a u istoj ispitivanoj grupi (Baker et al. 1996; Naudin et al. 1997; Xu et al. 1994; Stefanis et al. 1994; Theodoropoulou et al. 2001). Dalje, metanaliza Millera i sar. (2011), koja je u obzir uzela 40 studija, pokazala je da je TNF- $\alpha$  “trait” marker za shizofreniju, jer je povišen u fazi akutne deterioracije bolesti, ali da ostaje isti i nakon tretmana.

Studije vezane za citokinske varijacije u depresiji su takodje inkonzistentne. Meta analiza Dowlati i sar. (2010) pokazala je da su koncentracije IL-6 and TNF- $\alpha$  povišene kod depresivnih pacijenata u odnosu na kontrole. Rezultati vezani za TNF- $\alpha$  su heterogeni u smislu da nisu nadjene razlike, da je nadjeno smanjenje u grupi depresivnih i onih koji nisu depresivni (Brambilla &Maggioni, 1998; Haack et al. 1999; Karlovic et al. 2012) ili čak povećanje TNF- $\alpha$  u grupi depresivnih (Tuglu et al. 2003).

Iako u aktuelnom istraživanju nismo utvrdili značajne razlike medju ispitvanim grupama, treba imati u vidu da smo posmatrali dve grupe bolesti koje mogu imati sličanu imunološku ekspresiju, kao i da smo u obzir uzeli značajan broj „konfaunding faktora“ kako bismo postigli što veću homogenost uzorka. Uprkos činjenici da naši nalazi nisu slični nekim od navedenih istraživanja, smatramo da treba imati u vidu i vreme uzimanja krvi, koje je bilo dan nakon prijema i prosečno za 6 nedelja nakon tretmana. Neka od prethodnih istraživanja su “ponavljala “merjenja nakon znatno dužeg vremenskog perioda (8-12 nedelja) (Monteleone et al. 1997; Erbađci et al. 2001; Zhang et al. 2005). Bez obzira na navedeno, kriterijumi za remisju u našem uzorku su ispunili svi učesnici iz studijske grupe, a krv im je

uzimana u prvom momentu postizanja remisije. Dalje, u našem istraživanju pacijenti su bili mečovani po polu, pušačkom statusu i prebivalištu, a pušenje, godine i indeks telesne mase nisu uticali značajno na nivoe ispitivanih citokina. Ovakav nalaz je značajan, jer je u literaturi opisano da upravo mali broj studija navedene „konfaundere“ uzima u obzir pri interpretaciji rezultata, a koji mogu u značajnoj meri uticati na citokinski profil.

Ovakva heterogenost u dosadašnjim rezultatima može biti i posledica različitih bioloških materijala koji su analizirani (serum vs. plazma vs. cerebrospinalni likvor), različitih biohemijskih merenja, malih uzoraka, različitih faza bolesti (akutna vs. hronična; aktivna vs. remisija), već pomenutih „konfaundera“ (pol, godine, indeks telesne mase, pušenje), terapije, infekcija, gojaznosti, drugih somatskih bolesti itd. (Singh et al. 2009; Haack et al. 1999, Goldstein et al., 2009; Janssen et al. 2010; McCarty, 1999; Himmerich et al. 2009).

Naša studija je uključila subjekte sa normalnim indeksom telesne mase, sličan broj pušača i nepušača, bez drugih akutnih ili hroničnih somatskih bolesti. Ovakvi kriterijumi mogu biti korisni za kontrolu mogućih efekata na nivoe citokina, ali su ipak daleko od realne kliničke situacije. Poznato je da je shizofrenija često udružena sa ko-morbidnim stanjima (Kozumplik et al. 2009), te se naše istraživanje može primeniti na ograničenu grupu ljudi (Dunjic-Kostic et al. 2012).

Smatra se da godine i pol u značajnoj meri mogu uticati na imune alteracije kod obolelih od shizofrenije i depresije. Tako Haack i sar. (1999) zapažaju da starost povećava aktivnost TNF- $\alpha$  i IL-6, dok Maes i sar. (1994) nalaze da se povećanje koncentracija IL-6 zapaža jedino kod mlađjih pacijenata, ali ne i onih preko 35 godina. Baker i sar. (1996) su našli povećane nivoe TNF- $\alpha$  žena u odnosu na muški pol, dok Ganguli i sar. (1994) tvrde suprotno. Naši rezultati su paralelni sa Schmittom i sar. (2005) koji nisu našli korelaciju

između pola, godina i citokinskog nivoa kod shizofrenih pacijenata. Aldhai i Hamdy, (2003) i Yudkin, (2003) su utvrdili da povećanje masnog tkiva može biti povezano sa prekomernom ekspresijom TNF- $\alpha$  i IL-6 kao i smanjenom ekspresijom adiponektina u masnom tkivu. Dalje, nadjeno je da pušenje može indukovati povećanje TNF- $\alpha$  i IL-6 (Demirijan et al. 2006), međjutim u našoj studiji ni jedan od gore navedenih konfaundera nije doprineo alteraciji citokina u studijskoj grupi. Neke studije su našle da muškarci koji boluju od depresije imaju povećan rizik za inflamaciju od žena (Liukkonen et al. 2006; Toker et al. 2005), dok druge nalaze da se povećane koncentracije IL-6 zapažaju kod žena (Toker et al., 2005).

Interesantno je da su u našem istraživanju opservirane neke interkorelacije između IL-6 i TNF- $\alpha$ . Nadjena je pozitivna korelacija između vrednosti TNF- $\alpha$  u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi i između IL-6 u fazi remisije i akutnoj fazi kod ispitanika studijske grupe, kao i pozitivna korelacija između IL-6 i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi u kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata. Negativna korelacija nadjena je između IL-6 u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi kod pacijenata iz studijske grupe. IL-6 i TNF- $\alpha$  su teoretski inverzno proporcionalni, u smislu da povećanje IL-6 suprimuje TNF- $\alpha$  (Feuerstein et al., 1994). Naudin i sar. (1997) su našli pozitivnu korelaciju između ova dva citokina u svom istraživanju koje je uključilo obolele od shizofrenije. Slično, Zhang i sar. (2008) su našli pozitivnu korelaciju između IL-6, interleukin-8 (IL-8) i TNF- $\alpha$ . Naši rezultati mogu biti slučajnost, ali mogu i implicirati kompleksnu i sistematsku ulogu i "igru" dva navedena citokinska sistema. U budućim istraživanjima, smatramo uputnim posmatranje navedenih citokina sa drugim proinflamatornim, ali i antiinflamatornim citokina, jer samo sveobuhvatno sagledavanje ovof fenomena može pružiti dublji uvid u ovu kompleksnu interakciju.

## Citokini i klinički korelati shizofrenije i depresije

U aktuelno istraživanju uključeni su shizofreni pacijenti mlađeg adultnog doba (prosečna starost oko 36 godina) i stariji depresivni pacijenti (prosečna starost oko 52 godine), slični po broju hospitalizacija i dužini samog tretmana, ali različiti u starosti u vreme pojave prvih tegoba i starosti u vreme početka lečenja u smislu da su pacijenti oboleli od shizofrenije znatno ranije oboljevali i da su znatno mlađji započinjali lečenje. Medjutim, pacijenti oboleli od depresije imali su značajno duži period nelečenosti nego oboleli od shizofrenije, kao i ukupnu dužinu trajanja bolesti. Što se tiče povezanosti IL-6 i kliničkih korelata kod obolelih od shizofrenije nadjena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i broja hospitalizacija i tendencija ka značajnosti izmedju IL-6 u remisiji i ukupne dužine bolesti kod obolelih od shizofrenije. Sa druge strane, IL-6 u kontrolnoj grupi je korelirao sa dužinom lečenja, ukupnom dužinom bolesti, dok je TNF- $\alpha$  korelirao sa periodom nelečenosti. Smatrali smo neophodnim da u aktuelnom istraživanju uzmemo u obzir sve relevantne kliničke parametre kod obolelih od depresije i shizofrenije, kako zbog njihove heterogene kliničke ekspresije, tako i zbog sistematičnog i sveobuhvatnog posmatranja kompleksne interakcije citokina i kliničkih fenomena.

Naime, pokazano je da su povećane koncentracije IL-6 povezane sa dužinom bolesti kod shizofrenih pacijenata (Akiyama 1999) i nepovoljnim tokom lečenja (Müller et al. 2000). Pae i sar. (2006) nisu našli korelaciju izmedju početnih nivoa citokina i dužine bolesti o godina početka bolesti. Takvi podaci iz literature mogu govoriti u prilog različitom imunološkom statusu u različitim stadijumima bolesti. Dalje, predpostavlja se da može postojati razlika izmedju “ranog” i “kasnog” početka psihoze. Narayan i sar. (2008)

navode da se shizofrenija i njen tok menjaju na biološkom planu kako bolest progredira. Tako, navedeni autori navode da je kratko trajanje bolesti povezano sa alteracijama u transkripciji gena, RNA ekspresiji, vezivanju metala, dok se dugotrajna bolest dovodi u vezu sa inflamacijom, odgovorom na stimulus i izmenom u funkcionalnom smislu samog imunološkog statusa individue. Naudin i sar. (1997) su našli da su plazma nivoi TNF- $\alpha$  i IL-6 su povećani kod pacijenata sa hroničnom formom shizofrenije. Međutim, isiti autori dalje u istraživanju navode da se vrednosti TNF- $\alpha$  nisu menjale u odnosu na dužinu bolesti, dok su vrednosti IL-6 varirale i bile veće kod onih pacijenata koji su se lečili više od 15 godina.

U našem uzorku bili su uključeni relativno mlađji shizofreni pacijenti (oko 36 godina starosti), koji su se lečili u proseku oko 8 godina i čija je bolest trajala prosečno oko 10 godina, te iz tih razloga je možda nadjena samo tendencija ka značajnosti IL-6 u remisiji i dužine bolesti. Uključivanje starijih, rezidualnih shizofrenih pacijenata u dalje istraživanje bi potencijalno mogla dati pravi uvid u uticaj hroniciteta i progresije bolesti na nivoe citokina. Međutim, pokazali smo da je IL-6 vrlo "osetljiv" parameter u kontekstu povezanosti sa kliničkim korelatima kako kod obolelih od shizofrenije (nadjena je povezanost sa brojem hospitalizacija i IL-6), tako i kod obolelih od depresije. Depresivni pacijenti su posmatrani kao kontrolna grupa, samo u akutnoj egzacerbaciji bolesti, bili su u srednjem aduonom periodu (40-tim), prosečno su bolovali oko 15 godina, a lečili su se oko 10 godina. Zanimljivo je da je IL-6 u grupi depresivnih korelirao sa dužinom lečenja i ukupnom dužinom bolesti, dok je TNF- $\alpha$  korelirao sa periodom nelečenosti. Iz navedenih rezultata stiče se utisak da je IL-6 u značajnoj meri vulnerabilan marker kako za samu progresiju i hronicitet bolesti, tako i za uticaj primenjene medikacije tokom života

pacijenta, ali sveukupno posmatrano može se reći da sama promena navedenog citokina nije nužno linearna tokom vremena. Nadjeno je da je TNF u grupi obolelih od depresije povezan sa periodom neležnosti. Medjutim, treba imati u vidu da TNF može potencijalno imati dualnu ulogu, kako neuroprotektivnu tako i neurotoksičnu. TNF karakteriše nekoliko efekata kao što su citotoksičnost, antivirusna aktivnost, aktivacija faktora transkripcije i regulacija imunog odgovora (Bhardway & Aggarwal, 2003). Aktivacija receptora za TNF (TNF-R1) može biti "okidač" dualne kaskade u različitim tipovima ćelija i voditi kako apoptozi sa jedne strane, tako i proliferaciji, diferencijaciji i preživljavanju ćelija (Brietzke & Kapezinski, 2008). Buduća istraživanja bi mogla da ukažu da li je TNF- $\alpha$  čak i vulnerabilniji parameter, posebno u kontekstu različite medikacije.

U našem istraživanju nismo posmatrali ni shizofrene ni depresivne pacijente kroz različite subgrupe tj. različite kliničke modalitete. U tom kontekstu, zanimljivo istraživanje Cazzulla i sar. (1998) koji su analizirali IL-2, IFN $\gamma$  i IL-10 (tip 2 citokin) u uzorku koji se sastojao od hroničnih shizofrenih pacijenata. Rezultati govore u prilog da je IL-10 bio smanjen kod paranoidnih pacijenata mnogo više nego u ne-paranoidnih. U istraživanju nemačke grupe autora (Rothermundt et al. 2001) koncentracija IFN $\gamma$  kod pacijenata koji ranije nisu lečeni je bila smanjena, i to kako za vreme samo admisije u bolnicu tako i nakon dve nedelje od početka medikacije u poredjenju sa kontrolama. Zanimljiva su istraživanja različitih imunoloških parametara kod različitih subtipova depresije (Anisman et al., 1999; Kaestner et al., 2005; Marques-Deak et al., 2007; Rothermundt et al., 2001; Karlović et al. 2012; Dunjic-Kostić et al. 2012). Većina navedenih istraživanja sugerise da u različitim podtipovima depresije (melanholočni vs. atipični tip) postoje izvesne razlike u imunološkom statusu. Iako su uzorci bili heterogeni i merili su različite parametre (citokine,

proteine akutne faze, kortizol itd.) uniformni su u nalazu da postoji različita biološka osnova kod različitih subtipova depresije.

U našem istraživanju nismo delili ni studijski ni kontrolni uzorak na podtipove, niti su bili uključeni teraporezistenti ili pacijenti koji ranije nisu bili na medikaciji (*drug-naive*), jer bi ovakvi kriterijumi za uključivanje, potencijalno, prema podacima iz literature, mogli menjati imunološki status. U tom smislu naš uzorak predstavlja relanu kliničku situaciju u ustanovi tercijarnog tipa.

Dalje, posmatrali smo i povezanost citokina i psihopatoloških korelata shizofrenije i depresije pomoću skala PANSS, CGI, HAMD. Utvrđena je skoro značajna pozitivna korelacija između IL-6 u remisiji kod obolelih od shizofrenije i subskale opšte psihopatologije u akutnoj fazi, kao i veća „promena“ IL-6 kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti na pozitivnoj subskali PANSS-a u akutnoj fazi. Nisu nadjene povezanosti citokina i ostalih skala za merenje inteziteta simptoma. Zhang i sar. (2002) su našli da su serumski nivoi IL-2,6,8 značajno povećani kod pacijenata sa hroničnom formom shizofrenije, takodje primećena inverzna korelacija između nivoa IL-2 i pozitivne subskale na PANSS skali, kao i pozitivna korelacija između IL-8 i na negativne subskale PANSS kod obolelih od shizofrenije. Neki autori, (Inglot et al. 1994) su našli različitu produkciju INF- $\gamma$  (proinflamatornog citokina) u komparaciji sa predominantnom psihopatologijom.

Povećana produkcija navedenog citokina, je opservirana kod pacijenata sa predominantno pozitivnim simptomima na PANSS skali, dok je snižena produkcija bila povezana sa negativnim simptomima. Erbagci i sar. (2001) nisu pokazali povezanost poboljšanja merenog skalama nakon terapije risperidonom i bazičnih nivoa citokina. Dalje, Naudin i sar. (1997) su našli povišene koncentracije TNF- $\alpha$  kod obolelih od shizofrenije, ali je



korelacija sa subskalama PANSS-a izostala. Navedeni nalazi mogu govoriti u prilog da navedena povećanja ispitivanih proinflammatoryh citokina mogu imati sistemski efekat, što može biti u suprotnosti sa skalama koje testiraju intenzitet psihopatologije.

U našem istraživanju nismo utvrdili povezanost između skale za procenu depresivnosti i nivoa citokina u kontrolnoj grupi. Takav nalaz je i logičan, jer su u istraživanje uključeni pacijenti koji su imali ponovljene epizode depresije (dijagnostikovani kao rekurentni depresivni poremećaj) i koji su bili "umereno" depresivni. Karlović i sar. (godina) su našli negativnu korelaciju između IL-6 i težine depresije merene HAMD skalom kod atipične forme depresije. Zbog toga, možemo pretpostaviti da bi korelacija mogla postojati kod težih formi depresije.

Zanimljivi nalazi aktuelnog istraživanja su se odnosili i na pojedine socio-demografske (godine) i kliničke varijable (godine kada je tretman započet) koje su bile povezane sa intenzitetom psihopatološkog ispoljavanja merenih PANSS skalom. Tako, godine kada je pacijent započeo lečenje su negativno korelirale sa vrednostima na subskali negativne patologije, opšte psihopatologije i ukupnom vrednošću PANSS-a u akutnoj fazi kod pacijenata studijske grupe. Drugim rečima, što je pacijent oboleo od shizofrenije ranije započinjao lečenje (što je bio mlađi) to bi patologija bila intenzivnija i klinički kompleksnija. U prilog tome, u našem istraživanju i same godine pacijenta bile skoro značajno inverzno povezane sa ukupnom vrednošću PANSS-a u akutnoj fazi i značajno povezane sa negativnom korelatima na PANSS skali.

## Citokini i terapija antipsihoticima

Veliki broj studija se bavio uticajem antipsihotika na citokine. Ova stanovišta se u velikoj meri baziraju na tome da pojedini antipsihotici pokazuju korisne terapeutske efekte jer redukuju zapravo aktivnost mikroglije (tj. mikroglijalnu inflamatornu reakciju). Povišena mikroglijalna aktivnost dovodi do apoptoze, inhibicije neurogeneze, kao i abnormalnosti bele mase u mozgu obolelih od shizofrenije (Monji et al. 2009). Istraživanja su vršena kako sa tipičnim tako i sa atipičnim antipsihoticima. Pregledom studija može se zaključiti da su rezultati prilično kontroverzni. Studije sa hlorpromazinom su opisane isključivo na animalnim modelima, studije sa olanzapinom su bazirane na *in vivo* eksperimentima, dok *ex vivo* i *in vitro* nisu ni radjene. Najkompletniji rezultati postignuti su sa israživanjima IL-2. Smanjivanje nivoa proinflamatornih citokina nadjeni su u *in vivo* i *ex vivo* i *in vitro* studijama. Nadjeno je da haloperidol i klopazipin povećavaju koncentracije sIL-2R. Ovaj nalaz govori u prilog da antipsihotici suprimuju aktivnost IL-2 sistema. Stiče se utisak da ovaj efekat može biti zajednička karakteristika za delovanje antipsihotika na citokine (Drzyzga et al. 2006).

Haloperidol je često proučavan u kontekstu uticaja na citokine i to na pacijentima obolelim od shizofrenije. Kim i sar. (2000) i Zhang i sar. (2004) su pokazali da haloperidol ima potencijal da smanji povećane plazma/serumske nivoe IL-2. Kaminski i sar. (1990) pokazali su da haloperidol smanjuje nivo IL-2, ali i homovanilične kiseline (metabolit dopamina).

Atipični antipsihotici danas sve više postaju „zlatni standard“ u lečenju shizofrenije, prevashodno zbog manjeg broja neželjenih efekata i veće efikasnosti u lečenju i negativnog

podtipa shizofrenije. Novija istraživanja sugerišu na mogućnost da atipični antipsihotici mogu uticati na produkciju neurotrofnih, neurogenetskih i neuropotektivnih efekata. Klozapin i risperidon smanjuju serumske nivoe IL-2,6 i TNF- $\alpha$  koji su u fokusu pažnje kod shizofrenih pacijenata, jer se dovode u vezu sa hiperaktivnošću mikroglije (Lu, 2004). Hou i sar. (2006) su dokazali da olanzapin inhibira oslobađanje NO iz aktivirane mikroglije, dok haloperidol i risperidon ne. Takođe je pokazano da risperidon značajno inhibira produkciju IFN- $\gamma$  iz mikroglije, odnosno NO kao i proinflamatorne citokine kao što su IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  i to u poredjenju sa haloperidolom i drugim tipičnim antipsihoticima (Kato et al. 2007). Povišeni serumski nivoi IL-6 se povezuju sa teraporezistencijom, dok kod pacijenata koji odgovaraju na tretman nivoi pomenutog citokina ostaju nepromenjeni (Lin et al. 1998). Postavlja se pitanje koji su to mogući mehanizmi koji leže u osnovi imunomodulatornog efekta antipsihotika? Kao što je poznato, imune ćelije kao što su limfociti, monociti/makrofagi, granulociti, astrociti i mikroglija imaju receptore za nekoliko neurotransmitera (dopamin, serotonin, noradrenalin, histamin, acetilholin) (Agarwal& Marshall, 2000). Predpostavlja se da neuroleptici svoj imunomodulatorni efekat na krvnim ćelijama ispoljavaju kroz direktnu antagonisticku aktivnost na neurotransmitterske receptore. Tako su Zvara i sar. (2005), našli povećanu ekspresiju dopaminskih D2 receptora na limfocitima kod obolelih od shizofrenije za koje se smatra da mogu biti i „trait“ markeri za shizofreniju. Takođe, se ne može sa sigurnošću isključiti uticaj hormonskih promena tokom terapije antipsihoticima, a koji mogu uticati na citokine (Drzyzga et al. 2006).

U našem istraživanju posmatrali smo shizofrene pacijente, koji su ranije lečeni, ali koji su zbog nekomplijanse ušli u pogoršanje (minimum oko 4 nedelje nisu bili na propisanoj terapiji). Nismo uzeli u obzir teraporezistentne slučajeve, niti pacijente koji ranije nikada

nisu koristili medikaciju. Studijski pacijenti su posmatrani u dve faze bolesti (akutna vs. remisija) i tokom hospitalnog tretmana su dobijali adekvatnu terapiju, u dovoljnim dozama, dovoljno dugo. Ciljevi ovog istraživanja nisu uključivali praćenje efekata terapije i uticaj pojedinih grupa lekova, te ovom prilikom neće biti elaborirani. Svakako buduća istraživanja u ovom pravcu bi bila značajna jer je uticaj same terapije antipsihoticima na nivoe citokina već dugo tema debate u naučnim krugovima (Zhang et al. 2004; Song et al. 2000; Maes et al. 2002; Pae et al. 2006; Lu et al. 2004). U istraživanju koje je poredilo shizofrene pacijente (u akutnoj fazi i fazi remisije) sa zdravim kontrolama, nadjeno je da ni jedna grupa lekova (klasični antipsihotici, atipični antipsihotici, klopazipin) nisu uticali na nivoe ispitivanih citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ), ali da kod pacijenata koji su pored antipsihotika primali i stabilizatore raspoloženja primećen je porast TNF- $\alpha$  u remisiji (Dunjić-Kostić et al. 2013)

Sa druge strane, uticaj drugih psihotropnih supstanci kao što su stabilizatori raspoloženja, anksiolitici i antiholinergici, koji se vrlo frekventno koriste u tretmanu shizofrenije kao “dodatna” terapija su se pokazali kao korisni, međjutim oni nisu toliko detaljno proučavani (Afshar et al. 2009, Leucht et al. 2007, Schwarz et al. 2008, Tiihonen et al. 2009, Volz et al. 2007). Intrigantno pitanje je kako stabilizatori raspoloženja ostvaruju potencijali neuromodulatorni efekat. Nadjeno je da litijum utiče na smanjivanje plazma koncentracija proteina akutne faze, a koji su marker inflamatornog odgovora (Maes et al. 1997, Sluzewska et al. 1997). Takodje, primećeno je da litijum dovodi do povećavanja produkcije nekih Th-2 citokina, a smanjivanja Th-1 grupe (Rapaport & Manji, 2001).

Valproati takodje suprimuju produkciju TNF- $\alpha$  i imaju inhibitorni efekat na produkciju nuklearnog faktora kB (NF-kB) *in vivo* u humanim glia ćelijama. (Ichiyama et al. 2000).

## Citokini i terapija antidepresivima

Istraživanja o mogućnostima da citokini utiču na odgovor na antidepresivnu terapiju su još uvek u povoju. Tek je u skorije vreme objavljeno nekoliko studija (*in vivo i in vitro*) koje su izučavale uticaj antidepresiva na nivo citokina i njihovu funkciju (Janssen et al. 2010). Što se tiče *in vivo* studija, zaključak većine se sastojao u tome da antidepresivi značajno smanjuju nivo IL-6 u plazmi (koji je u depresiji povišen). Janssen i sar. (2010) sugerisali su da je mali broj studija procenjivao značajnost nivoa citokina u predikciji odgovora na tretman antidepresivima. Međutim, istaknuto je da bi serumski nivoi IL-6 i TNF- $\alpha$  mogli da imaju ulogu u predikciji odgovora na tretman. Za razliku od njih, nivoi solubilnog IL-2R i IL-8 nisu pokazali značajnost u smislu predikcije ishoda lečenja (Eller et al. 2008)

Što se tiče dokaza iz *in vitro* studija Xia i sar. (1996) su našli da i triciklični antidepresivi (klomipramin i imipramin) i selektivni inhibitori ponovnog preuzimanja serotonina (SSRI) (npr. citalopram) snižavaju produkciju proinflamatornih citokina kao što su IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2 i INF- $\gamma$  u PBMC (*peripheral blood mononuclear cells*) kod zdravih volontera. Maes i sar. (1999) su našli da klomipramin, sertralin i trazodon takodje dovode do smanjenja proinflamatornih citokina, ali povećavaju IL-10 kao antiinflamatorni citokin. Slično glediste imali su i Kubera i sar. (2004), koji su našli da imipramin, venlafaksin i fluoksetin povećavaju antiinflamatorni citokin IL-10. Sveukupno gledano, *in vitro* studije su pokazale da tretman antidepresivima ima jak imunosupresivni efekat kako kod depresivnih pacijenata tako i kod zdravih kontrola. Neki od mehanizama uticaja antidepresivne terapije na modulaciju citokina je i kroz povećavanje intracelularnog cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) i to kroz aktivaciju  $\beta$  adrenoreceptora i/ili dopaminskih receptora.

Sveukupno, veliki broj dokaza iz *in vitro* studija indikuje da antidepresivi mogu uticati na inhibiciju proinflamatorne citokinske aktivnosti i to kroz njihov uticaj na cAMP. Dalje, citokini imaju složenu interakciju sa serotoninim sistemom. Predpostavlja se da kroz njihov uticaj na serotonin, antidepresivi i indirektno uticu na citokine (Janssen et al. 2010).

Kada je reč o funkciji HPA osovine i terapiji antidepresivima, opisano je kako je HPA aktivnost u depresivnih pacijenata povećana, kao i da kortizol ima jak imunosupresivni efekat (Pace et al. 2007). U normalnim okolnostima, glukokortikoidi inhibiraju produkciju inflamatornih citokina. Medjutim, u depresiji mehanizam inhibicije je narušen. Povišeni nivoi IL-1,2,4,6, TNF- $\alpha$  i INF- $\gamma$  dalje stimulišu produkciju CRH što dalje doprinosi hiperaktivnosti HPA osovine (O'Brien et al. 2004). Proinflamatorni citokini inhibiraju glukokortikoidnu receptorsku (GR) funkciju i to kroz stimulaciju MAPK puta. Interesantno je da antidepresivi mogu povećati senzitivnost GR. Sumarno, antidepresivi i glukokortikoidi možda deluju kroz zajednički intracelularni signalni put sa MAPK, JAK i STAT kao značajnim medijatorima (Pace et al. 2007). Zaključno, farmakološka ispitivanja koja bi uključila istraživanje genetskih varijeteta citokina bi mogla da pomognu u objašnjavanju bioloških mehanizama značajnim za odgovor na terapiju antidepresivima.

U našem uzorku depresivni pacijenti su posmatrani samo kao kontrolna grupa i nivoi citokina su paćeni samo u akutnoj fazi. U istraživanje nisu uključeni teraporezistentni subjekti, jer postoje indicije da kod refraktarnih oblika depresije postoje drugačiji imunološki odgovori (Eller et al. 2008; Lanquillon et al. 2000; O'Brien et al. 2007). Uticaj terapije tokom lečenja nije praćen, ali je primećeno da je IL-6 povezan sa dužinom lečenja, a TNF- $\alpha$  sa periodom nelećenosti. Ovakvi rezultati sugerišu da hroničan tok bolesti,

ponovljene epizode, dug period neležnosti, nesumljivo utiču na nivoe ispitivanih citokina, ali i da taj uticaj ne mora nužno biti linearan tokom vremena (Dunjić-Kostić et al. 2012).

### **Završna razmatranja - citokini, neurohemija i shizofrenija**

U shizofeniji, dopaminergička hiperfunkcija u limbičkoj regiji i dopaminergička hipofunkcija u frontalnom korteksu su glavni neurotransmiterski disbalansi. Međutim, skorašnja istraživanja govore u prilog da je glutamatergička hipofunkcija ta koja je glavna za dopaminergičku disfunkciju (Muller&Schwarz, 2008). Glutamatergička hipoteza shizofenije govori u prilog potrebi za održavanje ekvilibrijuma između inhibitornih glutamatergičkih i dopaminergičkih neurona, a model kortiko-strijato-talamusno-kortikalnog kruga smatra se neuroanatomskom osnovom (Carlsson et al. 2001). Hipofunkcija glutamatergičkog kortiko-strijatalnog puta je povezana sa „otvaranjem talamusnog filtera“ što vodi nekontrolisanom „udaru“ senzornih informacija i preplavlivanju korteksa što rezultuje psihotičnim simptomima. Tako, nadjene su niske koncentracije glutamata u CSL obolelih od shizofrenije (Kim et al. 1980). Fenciklidin, ketamin, MK-801 blokiraju NMDA receptorski kompleks i povezani su simptomima koji se vidjaju u shizofeniji, a sve to ostvaruju kroz hipofunkciju glutamatergičke neurotransmisije. Citokini utiču na centralnu monoaminergičku aktivnost na specifičan način (Stöber et al. 2009; Zalcman et al. 1998). Tako, IL-1 stimuliše oslobađanje kateholamina na periferiji, ali i u CNS-u (Akyoshi et al. 1990). Eksperimenti na animalnim modelima su pokazali (Song et al. 1999; Dunn 1999) da sistemska administracija IL-1 povećava serotonin, noradrenalin i dopamin u hipotalamusu, nc.accumbensu, limbičkim

regijama, hipokampusu. Najvažniji neuromodulatorni efekat IL-2 je stimulacija dopaminske neurotransmisije. Studije na animalnim modelima su pokazale da akutna sistemska administracija IL-2 dovodi do povećavanja noradrenalina oko paraventrikularnih jedara hipotalamusa, dok ponovljena sistemska administracija smanjuje obrt noradrenalina u locusu ceruleusu i dopaminsku koncentraciju u nc.caudatusu i substantia nigra (Lacosta et al. 2000). IL-2 inhibiše i oslobadjanje acetilholina (Ach) u hipokampusu i prefrontalnom korteksu (PFC) (Awatsuji et al. 1993). IL-6 indukuje povećanje serotonina i mezokortikalnu dopaminsku aktivnost u hipokampusu i PFC. Periferna aplikacija IL-6 povećava dopaminski i serotoninski obrt u hipokampusu i frontalnom korteksu, ali ne utiče na noradrenalin što je pokazano na animalnim modelima (Zalcman et al. 1994), kao i da noradrenalin može da stimuliše astrocite da oslobadjaju IL-6 (Dunn, 1992). Što se tiče TNF- $\alpha$ , pokazano je da akutno oslobadjanje ima stimulatorni efekat na kateholamine, dok hronično utiče na inaktivaciju kateholaminske sekrecije (Soliven&Albert, 1992). Ukratko, hipotalamusna i hipokampalna iskoristivost noradrenalina i „turnover“ dopamina u PFC modifikovan je od strane IL-2, dok je IL-6 indukuje povećanje serotonina i mezokortikalnu dopaminsku aktivnost u hipokampusu i PFC. Za razliku od IL-1 koji indukuje širok spektar centralnih monoaminergičkih alteracija - poboljšava „turnover“ noradrenalina u hipotalamusu i hipokampusu, serotoninski „turnover“ u hipokampusu i PFC kao i pojačava dopaminsku iskorisljivost u PFC (na animalnim modelima) ( Stöber et al. 2009; Zalcman et al. 1998; Zalcman et al. 1994). Citokini kao što su IL-1 $\beta$ , IL-2 i INF- $\gamma$  redukuju produkciju serotonina stimulacijom aktivnosti indolamin-2,3-dioksigenaze (IDO), enzima koji konvertuje triptofan (prekursor serotonina) u kinurenin (Guillemin et al. 2001). Saznanja vezana za kinureninski metabolizam i njegovu uključenost u neurofiziološke procese se



dramatično uvećava u poslednjih par godina. Kinureninski put je glavni put degradacije triptofana i generiše produkciju nekoliko neuroaktivnih jedinica: hinolinska kiselina (QUIN) koja predstavlja ekscitotoksičnog NMDA receptorskog agonistu, zatim 3-hidroksikinurenin koji je generator slobodnih radikala i kinurenska kiselina (KYN-A) koji je antagonist glutamatergičkih i nikotinskih receptora. U malim koncentracijama KYN-A blokira glicinski deo NMDA receptora i alfa deo nikotinskog acetilholinskog receptora. Endogeni KYN-A, suptilno kontroliše „paljenje“ dopaminskih neurona u mezencefalonu, a uključen je i u kognitivne funkcije, što je pokazano na animalnim modelima. Takođe, povišeni nivoi KYN-A su nađeni u cerebrospinalnoj tečnosti u kortikalnim područjima obolelih od shizofrenije, ali i na post-mortem studijama. (Erhardt et al. 2009; Erhardt et al. 2001; Schwarz et al. 2001). Navedeni nalazi idu u prilog tome, da povećani nivoi kinurenske kiseline u shizofreniji mogu indukovati hiperaktivnost u mezokortikolimbickom dopaminskom sistemu (Erchart&Engberg 2002). Predpostavlja se da inflamatorni procesi mogu biti uključeni u patogenezu i shizofrenije i depresije. Naime, aktivacija enzima IDO i metaboličkog puta triptofan/kinurenin rezultira povećano produkcijom KYN-A u shizofreniji i povećanjem QUIN u depresiji. Ova razlika je povezana sa disbalansom u glutamatergičkoj neurotransmisiji, a koja može doprineti i povećanim nivoima NMDA agonizma u depresiji i NMDA antagonizma u shizofreniji. Dalje, navedeni disbalans rezultuje povećanom produkcijom prostaglandina E2 u shizofreniji i depresiji, kao i povećanom COX-2 ekspresijom u shizofreniji. (Müller et al. 2009). Uzimajući u obzir neuroprotektivnu funkciju KYN-A i neurotoksične efekte QUIN, različiti putevi imune aktivacije mogu voditi disbalansu između zaštite i toksičnosti. Dodana aktivacija mikroglialnih ćelija i astrocita može doprinosti imunološkom disbalansu (Müller et al. 2009). Različiti putevi imunološke

aktivacije (neurotoksični vs. neuroprotektivni metaboliti kineurina; agonistički vs. antagonistički efekti na NMDA receptorima; alteracije glutamatergičke neurotransmisije) mogu biti ključni u spoznaji novih terapijskih mogućnosti (Muller&Schwarz 2008). Buduća istraživanja bi trebala da eksplorišu upravo interakciju citokina-serotonina i "klackalicu" u kojoj je hinolinska kiselina ta koja utiče na neurodegeneraciju, a kinurenin neuroprotektor (Stöber et al. 2009). Ovakva istraživanja bi pomogla shvatanju neurodegenerativnih procesa koji se dešavaju u shizofreniji. Novija istraživanja u mnogome skreću pažnju i na činjenicu da je u shizofreniji glutamatergička hipofunkcija ta koja je ključna za dopaminergičku disfunkciju (Müller et al. 2007). Ovo stanovište je potvrđeno otkrićem neuroregulin i disbindin gena koji imaju funkcionalni uticaj na glutamatergički sistem. Glutamatergička hipofunkcija je uzrokovana NMDA receptorskim antagonizmom. Jedini do sada otkriveni NMDA receptorski antagonist je kinurenska kiselina (KYN-A). Kao što je gore navedeno KYN-A blokira i nikotinske acetilholinske receptore. Povećana koncentracija KYN-A u vezi je sa kognitivnom disfunkcijom i psihotičnim simptomima.

### **Citokini, neurohemija i depresija**

U depresiji, za razliku od shizofenije glutamatergička hiperfunkcija je blisko povezana sa nedostatkom serotoninske i noradrenalinske neurotransmisije. Kao što je navedeno aktivacija imunog sistema dovodi do brojnih neuroendokrinih i neurotransmitterskih promena. Poznato je da se depresija karakteriše poremećajem u neurotransmisiji noradrenalina i serotonina. Proinflamatorni citokini dovode do promena u obrtu noradrenalina i serotonina i to u onim regionima mozga (hipotalamus, hipokampus,

amigdala i prefrontalni korteks) za koje se zna da su od značaja za ovu vrstu duševnog oboljenja (Dunn, 1999). Dalje, pokazano je da citokini utiču na smanjivanje aktivnosti u presinaptičkim serotoninskim neuronima, zatim da dovode do promena u preuzimanju serotonina iz sinaptičke pukotine kao i da dovode do alternacija postsinaptičkih serotoninskih receptora (Kubera et al. 2000). Sinteza serotonina zavisi od raspoloživosti njegovog prekursora triptofana u mozgu. Pojedini citokini (IL-1,2,6 i INF- $\gamma$ ) smanjuju dostupnost triptofana tako što aktiviraju enzim IDO. Povećana stimulacija IDO od strane citokina može voditi smanjenju serumskog triptofana, a samim tim i redukciji sinteze serotonina (Stone, 2002). Capuron i sar. (2002) su pokazali da kod pacijenata obolelih od kancera (koji primaju imunoterapiju) postoji pozitivna korelacija između razvoja depresivne fenomenologije (praćene padom na kognitivnom i hormičkom planu) i sniženih koncentracija triptofana u plazmi tokom terapije. Upravo ta smanjena raspoloživost triptofana u mozgu, koja rezultira značajnim smanjenjem sinteze serotonina može biti glavni događaj koji leži u osnovi serotonergičkog deficita u depresiji.

Pojava depresivnog raspoloženja može da bude rezultat i povećane produkcije nekih metabolita IDO kao što su tri hidroksi kinurenin (3OH KYN) i hinolinska kiselina (QUIN). Navedene kiseline su neurotoksične i nadjene su kako u nekim neurodegenerativnim oboljenjima tako i u nekim psihijatrijskim oboljenjima (anoreksija i depresija) (Maes, 2002; Schiepers, 2005). 3OH-KYN može dovesti i do intenziviranja monoaminoooksidaza (MAO) aktivnosti, što rezultuje nižim koncentracijama kateholamina i serotonina karakterističnim za depresiju. Zato se s pravom može reći da je enzim IDO spona između imunog sistema i neurohemijskih alteracija koje su povezane sa depresijom.

Pored efekata na neurotransmisiju, citokini imaju uticaja i na aktivnost HPA osovinu. Zna se da je depresija povezana sa hiperaktivnošću HPA osovine, kao i sa disregulacijom povratne sprege. Smatra se da su proinflamatorni citokini snažni aktivatori osovine, kao i da glukokortikoidna rezistencija koja leži u osnovi disregulacije HPA osovine može biti uzrokovana citokinima. Mehanizam pomoću koga citokini narušavaju inhibitorni *feedback*, možda uključuje kortikosteroidnu receptorsku rezistenciju u hipotalamusu i hipofizi (Zunszain, 2011; Schiepers, 2005).

Aktuelno istraživanje je jedno od retkih psihoneuroimunoloških istraživanja u našoj zemlji. U kliničkom uzorku koji je obuhvatio značajan broj pacijenata sa teškim duševnim oboljenjima (shizofrenija vs. depresija) praćene su vrednosti citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) koji se najčešće, prema podacima iz literature, dovode u vezu sa navedenim psihijatrijskim poremećajima. Iako nisu nadjene značajne razlike u serumskim koncentracijama ispitivanih citokina izmedju ova dva oboljenja, kao ni izmedju dve faze bolesti (akutna vs. remisija) u grupi shizofrenih pacijenata, smatramo značajnim podatak da su nadjene korelacije medju citokinima u različitim fazama bolesti, jer govori u prilog kompleksne interakcije ova dva sistema. U aktuelnom istraživanju, pokušali smo da na sistematičan način uzmemo u obzir i potencijalne “konfaunding” faktore kao što su pol, starost, pušenje, indeks telesne mase, a koji se često dovode u vezu sa alteracijama citokinskog sistema kod obolelih. Dalje, našli smo značajan broj korelacija izmedju ispitivanih citokina i važnih kliničkih varijabli (dužina lečenja, dužina bolesti, period nelečenosti, intenzitet psihopatologije) koje sugerišu na činjenicu da je sama bolest, njen tok, progresija i korišćena terapija u značajnoj meri utiču na imunološki sistem obolelog i da najverovatnije dovode i do kompromitovanja ne

samo kompleksne interakcije u imunološkom sistemu, već i promena kompletne neurotransmitterske i endokrinološke “mreže” i komunikacije.

## 7. ZAKLJUČCI

- Nije nadjena razlika u serumskim koncentracijama IL-6 i TNF- $\alpha$  kod obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti u odnosu na fazu remisije, kao ni razlika ispitivanih citokina izmedju obolelih od shizofrenije u akutnoj fazi bolesti i u fazi remisije i kontrolne grupe depresivnih pacijenata.
- Nadjene su pozitivne korelacija izmedju vrednosti TNF- $\alpha$  u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi, kao i izmedju i IL-6 u fazi remisije i akutnoj fazi kod pacijenata studijske grupe. Kod pacijenata kontrolne grupe nadjena je pozitivna korelacija izmedju IL-6 i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi. Nadjena je negativna korelacija izmedju IL-6 u fazi remisije i TNF- $\alpha$  u akutnoj fazi kod pacijenata iz studijske grupe. Pol, starost, pušenje i indeks telesne mase nisu uticali na nivoe ispitivanih citokina.
- U aktuelnom istraživanju IL-6 i TNF- $\alpha$  su korelirali sa pojedinim kliničkim varijablama koje su praćene. Tako, IL-6 u fazi remisije je pozitivno korelirao sa brojem hospitalizacija u grupi obolelih od shizofrenije, a ustanovljen je i trend ka značajnosti izmedju IL-6 u remisiji i ukupne dužine bolesti kod obolelih od shizofrenije.
- U kontrolnoj grupi depresivnih pacijenata primećene su sledeće pozitivne korelacije: izmedju IL-6 i dužine lečenja i ukupne dužine bolest i izmedju TNF- $\alpha$  i perioda nelećenosti.

- Utvrđen je trend ka pozitivnoj korelaciji između IL-6 u remisiji kod obolelih od shizofrenije i subskale opšte psihopatologije u akutnoj fazi, kao i da je promena IL-6 bila veća kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti na pozitivnoj subskali PANSS-a u akutnoj fazi.
- Nije nadjena povezanost ispitivanih citokina kod obolelih od shizofrenije (ni u jednoj od faza bolesti) sa vrednostima na CGI skali. Nije nadjena povezanost vrednosti koncentracija ispitivanih citokina kod obolelih od depresije i skora na HAMD skali.
- Medjusobne interakcije citokina kako proinflamatornih, tako i antiinflamatornih je nužno pratiti, jer samo bolje razumevanje njihove povezanosti i odnosa može nas detaljnije uputiti u samu funkcionalnost imunološkog sistema i načine interakcije sa drugim važnim sistemima kao što je sistem neurotransmisije i endokrinološki sistem.
- Sistematsko praćenje „konfaunding“ faktora (pol, starost, pušenje, indeks telesne mase, infekcije, teža akutna i hronična somatska oboljenja, terapija itd.) je neophodno u istraživanju, jer navedeni faktori u značajnoj meri mogu uticati na izmenu imunološkog profila obolelog i time dati „lažno pozitivnu“ sliku.
- Uticaj same prirode bolesti, njenog toka i dužine, dužine lečenja, dužine perioda nelečenosti, intenziteta aktuelne psihopatologije na nivoe citokina je jedna od

činjenica opserviranih u ovom istraživanju. Navedeni rezultati sugerišu na kompleksnu interakciju između bolesti sa svim svojim „kvalitetima“ i alteracija u citokinskom nivou, koje ne moraju biti nužno linearne tokom vremena.

- Heterogena klinička ekspresija shizofrenije i depresije praktično implicuju neophodnost posmatranja ovih oboljenja kroz podtipove, jer je moguće da različite forme oboljenja imaju i različitu imunološku ekspresiju.
- Buduće prospektivne longitudinalne studije bi trebale da objasne dublje biološke osnove depresije i shizofrenije, naročito sa aspekta kompleksnih interakcija između imunološkog, endokrinog i neurotransmiterskog sistema, njihovih potencijalno dualnih efekata kao i efekata farmakoterapije na navedene sisteme i njihov funkcionalni značaj.



## 8. LITERATURA

1. Abbass AK, Lichtman AH. Osnovna imunologija. Data Status, 2008.
2. Abrahams VM, Mor G. Toll like receptors and they role in the trophoblast. *Placenta* 2005; 26: 540-7.
3. Achour SB, Pascual O. Glia: the many ways to modulate synaptic plasticity. *Neurochem Int* 2010; 57:440-5.
4. Afshar H, Roohafza H, Mousavi G, Golchin S, Toghianifar N, Sadeghi M et al.: Topiramate add-on treatment in schizophrenia: arandomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Psychopharmacol* 2009; 23: 157-62.
5. Agarwal SK, Marshall Jr. DG. Beta -adrenergic modulation of human type-1/type-2 cytokine balance. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:91-8.
6. Akiyama K: Serum levels of soluble IL-2 receptor alpha, IL-6 and IL-1 receptor antagonist in schizophrenia before and during neuroleptic administration. *Schizophr Res* 1999; 37: 97-106.
7. Akiyoshi M, Shimizu Y, Saito M. Interleukin-1 increases norepinephrine turnover in the spleen and lung in rats. *Biochem Biophys Res Comm* 1990; 173:1266-70.
8. Aldhahi W, Hamdy O. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes. *Curr Diab Rep* 2003; 3:293-8.

9. Anisman H, Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z. Endocrine and cytokine correlates of major depression and dysthymia with typical or atypical features. *Mol Psychiatry* 1999; 4:182-88.
10. Arlot V, Rothermundt M, Peters M, Leonard B. Immunological research in clinical psychiatry: report on the consensus debate during the 7th expert meeting on psychiatry and immunology. *Molecular Psychiatry* 2002; 7:822-6.
11. Awatsuji H, Furukawa Y, Nakajima M, Furukawa S, Hayashi K. Interleukin-2 as a neurotrophic factor for supporting the survival of neurons cultured from various regions of fetal rat brain. *J Neurosci Res* 1993; 35:305-11.
12. Baker I, Masserano J, Wyatt RJ. Serum cytokine concentrations in patients with schizophrenia. *Shizophrenia Res* 1996; 20: 199-203.
13. Basterzi AD, Aydemir C, Kisa C, Aksaray S, Tuzer V, Yazici K et al. IL-6 levels decrease with SSRI treatment in patients with major depression. *Hum Psychopharmacol* 2005; 20:473-76.
14. Baune BT, Dannlowski U, Domschke K, Janssen DG, Jordan MA, Ohrmann P et al. The Interleukine 1 Beta (IL1B) gene is associated with failure to achieve remission and impaired emotion processing in major depression. *Biol Psychiatry* 2010; 67:543-9.

15. Bayer TA, Buslei R, Havas L, Falkai P. Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. *Neurosci Lett.* 1999;126-128.
16. Bayer TA, Falkai P, Maier W. Genetic and non genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the „two hit hypothesis“. *J Psychiatry Res* 1999; 33:543-8.
17. Beneke M, Rasmus W. Clinical Global Impressions: some critical comments. *Pharmacopsychiatry* 1992; 25:171–76.
18. Berckel BN, Bossong MG, Boellaard R, Kloet R, Schuitemaker A, Caspers E et al. Microglial activation in recent onset schizophrenia: A quantitative(R)[11C]PK11195 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 2008; 64:820-22.
19. Besedovsky HO, del Rey A, Klusman I, Furukawa H, Monge Arditi G, Kabiersch A. Cytokines as modulators of the hypothalamus-pituitary - adrenal axis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 40:613-8.
20. Bessis A, Bechade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia* 2007; 55:233-238.
21. Bhardwaj A, Aggarwal B: Receptor-mediated choreography of life and death. *J Clin Immunol* 2003; 23: 317-32.
22. Bilbo SD, Schwarz JM. Early-life programming of later life brain and behaviour: a critical role for the immune system. *Frontiers in behavioral neuroscience* 2009; 3:1-14.

23. Billiards SS, Haynes RL, Folkerth RD. Development of microglia in the cerebral white matter of the human fetus and infant. *J Comp Neurol* 2006; 497:199-208.
24. Block ML, Hong JS. Microglia and inflammation mediated neurodegeneration. Multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 2005; 76:77-98.
25. Borda T, Gomez R, Berria MI, Sterin-Borda L. Antibodies against astrocyte M1 and M2 muscarinic cholinergic receptor from schizophrenic patients' sera. *Glia* 2004; 45:144-54.
26. Brambilla, F., Maggioni, M., 1998. Blood levels of cytokines in elderly patients with major depressive disorder. *Acta. Psychiatr. Scand.* 97,309-313.
27. Brietzke E & Kapczinski F: TNF- $\alpha$  as a molecular target in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 1355-61.
28. Brown AS, Begg MD, Gravenstein S et al. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 2004; 61: 774-80.
29. Buntinx M, Moreels M, Vandenabeele F, Lambrechts I, Raus J, Steels P et al. Cytokine induced cell death in human oligodendroglial cell lines: 1. Synergistic effects of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  on apoptosis. *J Neurosci Res* 2004; 76:834-45.
30. Burch PRJ. Schizophrenia: some new aetiological considerations. *Br J Psychiatry* 1964; 110:818-24.
31. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier Saunders, 2006.

32. Capuron L, Miller AH. Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. *Biol Psychiatry* 2004;56:819-24.
33. Carlsson A, Waters N, Holm-Waters, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41:237-60.
34. Carpenter LL, Heninger GR, Malison RT, Tyrka AR, Price LH. Cerebrospinal fluid interleukin (IL)-6 in unipolar major depression. *J Affect Disord* 2004; 79:285-9.
35. Carson MJ, Crane J, Xie AX. Modeling CNS microglia: the quest to identify predictive models. *Drug Discov Today Dis Models* 2008; 5:19-25.
36. Cazzullo CL, Scarone S, Grassi B, Vismara C, Trabattoni D, Clerici M. Cytokines production in chronic schizophrenia patients with and without paranoid behaviour. *Prog Neuropsychopharmacology Biol Psychiatry* 1998; 22:947-57.
37. Chandler S, Miller KM, Clements JM. Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *J Neuroimmunol* 1997; 72: 155-61.
38. Chengappa KN, Ganguli R, Yang ZW et al.. Impaired mitogen (PHA) responsiveness and increased autoantibodies in Caucasian schizophrenic patients with the HLA B8/DR3 phenotype. *Biol Psychiatry* 1995; 37:546-9.
39. Choy KH, de Visser YP, van den Buuse M. The effect of „two hit“ neonatal and young-adult stress on dopaminergic modulation of prepulse inhibition and dopamine receptor density. *Br J Pharmacol* 2009; 156:388-96
40. Čulić S. Cytokines nad autoimmune diseases. *Paediatrs Croat* 2005; 49: 148-61.

41. Dahlgren J, Samuelsson AM, Jansson T, Holmang A. Interleukin-6 in the maternal circulation reaches the rat fetus in mid gestation. *Pediatr Res* 2006; 60:147-51.
42. Dameshek W. White blood cells in dementia praecox and dementia paralyca. *Arch. Neurol Psychiatry* 1930; 24:855.
43. Dantzer R. Cytokines induced sickness behaviour: where do we stand? *Brain Behav Immun* 2001;15:7-24.
44. Demirijan L, Abboud RT, Li H, Duronio V. Acute effect of cigarette smoke on TNF-alpha release by macrophage mediated through the erk1/2 pathway. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 592-7.
45. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 2010; 67:446-57.
46. Drzyzga L, Obuchowicz E, Marcinowska A, Herman Z.S. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain, Behaviour and Immunity* 2006;20:532-545.
47. Dunn AJ, Wang J, Ando T. Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress. In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R (Eds.). *Cytokines, stress and depression*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999, pp 117-27.
48. Dunn AJ. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. *Clin Neurosci Res* 2006; 6:52-68.

49. Dunn AJ. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261:964-9.
50. Dunjic-Kostic B, Ivkovic M, Radonjic NV, Petronijevic ND, Pantovic M, Damjanovic A, Poznanovic ST, Jovanovic A, Nikolic T, Jasovic-Gasic M. Melancholic and atypical major depression - Connection between cytokines, psychopathology and treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. doi:pii: S0278-5846(12)00291-6. 10.1016/j.pnpbp.2012.11.009. [Epub ahead of print]
51. Dunjic-Kostic B, Jasovic-Gasic M, Ivkovic M, Radonjic NV, Pantovic M, Damjanovic A, Poznanovic ST, Jovanovic A, Nikolic T, Petronijevic ND. Serum levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- alpha in exacerbation and remission phase of schizophrenia. *Psychiatria Danubina* 2013. In Press
52. Eller T, Vasar V, Shlik J, Maron E. Pro-inflammatory cytokines and treatment response to escitalopram in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* 2008;32:445-50.
53. Erbağci AB, Herken H, Köylüoğlu O, Yılmaz N, Tarakçıoğlu M. Serum IL-1 $\beta$ , sIL-2R, IL-6 and TNF- $\alpha$  in schizophrenic patients, relation with symptomatology and responsiveness to risperidone treatment. *Mediators Inflamm* 2001;10: 109–15.

54. Erchart S, Engberg G. Increased phasic activity of dopaminergic neurons in the rat ventral tegmental area following pharmacologically elevated levels of endogenous kynurenic acid. *Acta Physiol Scand* 2002; 175:45-53.
55. Erhardt S, Blennow K, Nordin C, Skogh E, Lindstrom LH, Engberg G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 2001; 313:96-98.
56. Erhardt S, Olsson SK, Engberg G. Pharmacological manipulation of kynurenic acid: potential in the treatment of psychiatric disorders. *CNS Drugs* 2009; 23:91-101.
57. Fessel WJ. Autoimmunity and mental illness. *Arch Gen Psychiatry* 1962; 6:320-3.
58. Feuerstein GZ, Liu T, Barone FC. Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor-alpha. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1994; 6:341-60.
59. Frommberger UH, Bauer J, Haselbauer P, Fräulin A, Riemann D, Berger M. Interleukin-6-(IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1997; 247:228-33.
60. Gadiant RA, Otten U. Identification of interleukin-6 (IL-6)-expressing neurons in the cerebellum and hippocampus of normal adult rats. *Neurosci Lett* 1994; 182:243-6.
61. Ganguli R, Rabin BS, Belle SH. Decreased IL-2 production in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1989; 26:427-30.



62. Ganguli R, Yang Z, Shurin G, Chengappa KN, Brar JS, Gubbi AV et al. Serum Interleukin-6 concentrations in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res* 1994; 51:1-10;
63. Goldman LS, Hudson JI, Weddington WW Jr. Lupus-like illness associated with chlorpromazine. *Am J Psychiatry* 1980; 137:1613-14.
64. Goldstein BI, Kemp DE, Soczynska JK, McIntyre RS. Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature. *J Clin Psychiatry* 2009;70: 1078–90.
65. Gorwood P, Pouchot J, Vinceneux P, Puechal X, Flipo RM, De Bandt M et al. Rheumatoid arthritis and schizophrenia: a negative association at a dimensional level. *Schizophr Res* 2004; 66: 21-9.
66. Guillemin GJ, Kerr SJ, Pemberton LA, Smith DG, Smythe GA, Armati PJ et al. IFN-beta 1b induces kynurenine pathway metabolism in human macrophages: potential implications for multiple sclerosis treatment. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 21: 1097-101.
67. Haack M, Hinze-Selch D, Fenzel T, Kraus T, Kühn M, Schuld A, Pollmächer T. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J Psychiatry Res* 1996; 33:407-18.
68. Hama T, Kushima Y, Miyamoto M, Kubota M, Takei N, Hatanaka H. Interleukin-6 improves the survival of mesencephalic catecholaminergic and septal cholinergic

- neurons from postnatal, twoweek- old rats in cultures. *Neuroscience* 1991; 40: 445–52.
69. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960; 23:56-62
70. Heath R, Krupp I, Byers L, Liljekvist J. Schizophrenia as an immunologic disorder: 2. Effects of serum protein fractions on brain function. *Arch Gen Psychiatry* 1967; 16:10-23.
71. Heath RG, Krupp IM. Schizophrenia as an immunologic disorder: I. Demonstration of antibrain globulins by fluorescent antibody techniques. *Arch Gen Psychiatry* 1967; 16: 1-9.
72. Henneberg AE, Horter S, Ruffert S. Increased prevalence of antibrain antibodies in the sera from schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 1994;14:15-22.
73. Himmerich H, Berthold-Losleben M, Pollmächer T. The relevance of the TNF-alpha system in psychiatric disorders. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2009; 77: 334-45.
74. Holmlund U, Cebers G, Dahlfors AR, Sandstedt B, Bremme K, Ekström ES et al. Expression and regulation of the pattern recognition receptors toll like receptor - 2 and toll like receptor-4 in the human placenta. *Immunology* 2002;107:145-51.
75. Holsapple MO, West LJ, Landreth KS. Species comparison of anatomical and functional immune system development. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2003; 68:321-34.

76. Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* 2000; 55:688-97.
77. Hou Y, Wu CF, Yang JY, He X, Bi XL, Yu L, Guo T. Effects of clozapine, olanzapine and haloperidol on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated N9 cells. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30: 1523-8.
78. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Association of depression with C-reactive protein, IL-1, IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med* 2009; 71:171-86.
79. Hu S, Peterson PK, Chao CC. Cytokine mediated neuronal apoptosis. *Neurochem Int* 1997; 30:427-31.
80. Ichiyama T, Okada K, Lipton JM, Matsubara T, Hayashi T, Furukawa S. Sodium valproate inhibits production of TNF- $\alpha$  and IL-6 and activation of NF- $\kappa$ B. *Brain Res* 2000; 857: 246-51.
81. Inglot AD, Leszek J, Piasecki E, Sypula A. Interferon responses in schizophrenia and major depressive disorders. *Biol Psychiatry*. 1994 ;35:464-73.
82. Janssen DGA, Caniato RN, Verster JC, Baune BT. A psychoneuroimmunological review on cytokines involved in antidepressant treatment response. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp* 2010; 25:201-15.
83. Jonakait GM. The effects of maternal inflammation on neuronal development: possible mechanisms. *Int J Dev Neurosci* 2007; 25:415-25.

84. Jones AL, Mowry BJ, Pender MP, Greer JM. Immune dysregulation and self reactivity in schizophrenia: Do some cases of schizophrenia have autoimmune basis? *Immunology and Cell Biology* 2005; 83:9-17.
85. Jüttler E, Tarabin V, Schwaninger M. Interleukin-6 (IL-6): a possible neuromodulator induced by neuronal activity. *Neuroscientist*, 2002; 8: 268-75.
86. Kaestner F, Hettich M, Peters M, Sibrowski W, Hetzel G, Ponath G et al. Different activation patterns of proinflammatory cytokines in melancholic and non-melancholic major depression are associated with HPA axis activity. *J Affect Disord* 2005; 87:305-11.
87. Kagaya A, Kugaya A, Takebayashi M, Fukue-Saeki M, Saeki T, Yamawaki S et al. Plasma concentrations of interleukin-1beta, interleukin-6, soluble interleukin-2 receptor and tumor necrosis factor alpha of depressed patients in Japan. *Neuropsychobiology* 2001; 43:59-62.
88. Kaminski R, Powchick P, Warne PA, Goldstein M, McQueeney RT, Davidson M. Measurement of plasma homovanilic acid concentrations in schizophrenic patients. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 1990; 14:271-87.
89. Karlović D, Serretti A, Vrkić N, Martinac M, Marčinko D. Serum concentrations of CRP, IL-6, TNF- $\alpha$  and cortisol in major depressive disorder with melancholic or atypical features. *Psychiatry. Res.* 2012; doi:10.1016/j.psychres.2011.12.007. (in press)
90. Kato T, Monji A, Hashioka S, Kanba S. risperidone significantly inhibits interferon-gamma-induced microglial activation in vitro. *Schizophr Res* 2007; 92:108-115.

91. Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nature Immunol* 2006; 7:131-7.
92. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA.: The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 1987; 13: 261-276
93. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmuller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett* 1980; 20:379-82.
94. Kim YK, Kim L, Lee MS. Relationship between interleukins, neurotransmitters and psychopathology in drug-free male schizophrenics. *Schizophr Res* 2000; 44:165-75.
95. Klasifikacija mentalnih poremećaja i poremećaja ponašanja. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1992.
96. Knight JG. Dopamine  $\alpha$ -receptor stimulating antibodies, a possible cause of schizophrenia. *Lancet* 1982; i: 1073-6.
97. Kozumplik O, Uzun S, Jakovljevic M. Psychotic disorders and comorbidity: somatic illness vs. side effects. *Psychiatr Danub* 2009; 21:361-7.
98. Krepelin E. (1919) Dementia praecox and paraphrenia (Foundations of modern psychiatry) [FACSIMILE] , 1st Edn, July, 2002. Thoemmes Press.
99. Krikun G, Lockwood CJ, Abrahams VM, Mor G, Paidas M, Guller S. Expression of toll-like receptors in the human decidua. *Histol Histopathol* 2007; 22:847-54

100. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: Implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 2000;157:683-94.
101. Kubera M, Kenis G, Bosmans E, Kajta M, Basta-Kaim A, Scharpe S et al. Stimulatory effect of antidepressants on the production of IL-6. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 185-92.
102. Kubera M, Maes M. Serotonin-Immune interactions in major depression. In: Patterson, Kordon, Christen (Eds.). *Neuro-immune interactions in Neurologic and Psychiatric Disorders*. Springer-Verlag, Berlin, 2000, pp 79-87.
103. Lacosta S, Merali Z, Anisman H. Central monoamine activity following acute and repeated systemic interleukin-2 administration. *Neuroimmunomodulation* 2000; 8:83-90.
104. Lalancette-Hebert M, Growing G, Simard A, Weng YC, Kriz J. Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain. *J Neurosci* 2007; 27: 2596-2605.
105. Lanquillon S, Krieg JC, Bening-Abu-Shach U, Vedder H. Cytokine production and treatment response in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 370-79
106. Leucht S, Kissling W & McGrath J: Lithium for Schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 3: CD003834.

107. Lin A, Kenis G, Bignotti S, Tura GJ, De Jong , Bosmans E et al. The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr Res* 1998; 32: 9-15.
108. Litherland SA, Xie XT, Hutson AD, Wasserfall C, Whittaker DS, She JX et al. Aberrant prostaglandin synthase 2 expression defines an antigen-presenting cell defect for insuline-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999; 104: 515-523.
109. Liukkonen T, Silvennoinen-Kassinen S, Jokelainen J, Räsänen P, Leinonen M, Meyer-Rochow VB, Timonen M. The association between C-reactive protein levels and depression: Results from the northern Finland 1966 birth cohort study. *Biol. Psychiatry*.2006; 60: 825-30.
110. Logan DG, Deodnar SD. Schizophrenia an immunological disorder? *JAMA* 1970; 212:1703-4.
111. Lu LX, Guo SQ, Chen W, Li Q, Cheng J, Guo JH. Effect of clozapine and risperidone on serum cytokine levels in patients with first episode paranoid schizophrenia. *Academic journal of the first medical collage of PLA.Di Yi Jun Yi da Xue Xue Bao* 2004; 24;1251-4.
112. Lynch AM, Walsh C, Delaney A, Nolan Y, Campbell VA, Lynch MA. Lipopolysaccharide-induced increase in signaling in hippocampus is abrogated by IL-10 a role for IL-1 beta? *J Neurochem* 2004; 88:635-46.
113. Maes M, Bocchio Chiavetto L, Bignosti S, Battisa Tura GJ, Pioli R, Boin F et al. Increased serum interleukin-8 and interleukin-10 in schizophrenic patients

- resistant to treatment with neuroleptics and the stimulatory effects of clozapine on serum leukemia inhibitory factor receptor. *Schizophr Res* 2002; 54:281-91.
114. Maes M, Delange J, Ranjan R, Meltzer HY, Desnyder R, Cooremans W et al. Acute phase proteins in schizophrenia, mania and major depression: modulation by psychotropic drugs. *Psychiatr Res* 1997; 66: 1-11.
115. Maes M, Meltzer HY, Bosmans E. Immune-inflammatory markers in schizophrenia: comparison to normal controls and effects of clozapine. *Acta Psychiatr Scand* 1994; 89: 346-51.
116. Maes M, Song C, Lin AH, Bonaccorso S, Kenis G, De Jongh R et al. Negative immunoregulatory effects of antidepressants: inhibition of interferon-gamma and stimulation of Interleukin-10 secretion. *Neuropsychopharmacology* 1999;20:370-9.
117. Maes M, Yirmiya R, Norberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G et al. The inflammatory & neurodegenerative hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis* 2009; 24:27-53.
118. Maes M. The immunoregulatory effects of antidepressants. *Hum. Psychopharmacol* 2001; 16: 95-103.
119. Maier SF, Watkins LR. Cytokines for psychologists: implications for bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood and cognition. *Psychol Rev* 1998; 105: 83-107.



120. Marques-Deak AH, Neto FL, Dominguez WV, Solis AC, Kurcgant D, Sato F, Ross JM, Prado EB. Cytokine profiles in women with different subtypes of major depressive disorder. *J. Psychiatr. Res.* 2007; 41:152-9.
121. Masek K, Slansky J, Petrovicky P, Hadden JW. Neuroendocrine immune interactions in health and disease. *Int. Immunopharmacol* 2003; 3:1235-46.
122. Matsumoto M, Funami K, Oshiumi H, Seya T. Toll-like receptor 3: a link between toll like receptor, interferon and viruses. *Microbiol Immunol.* 2004;48:147-54
123. Mayer U, Feldon J, Schedlowski M, Yee BK. Immunological stress at the maternal-foetal interface: a link between neurodevelopment and adult psychopathology. *Brain Behav Immun* 2006; 20:378-88.
124. Mayer U, Feldon J, Schedlowski M, Yee BK. Towards an immunoprecipitated neurodevelopment animal model of schizophrenia. *Neurosci Biobehav. Rev* 2005; 29:913-47.
125. Mayer U, Feldon J, Yee BK. A review of fetal brain cytokine imbalance hypothesis of schizophrenia. *schizophrenia Bulliten* 2009; 35:959-972.
126. Maynard TM, Sikich L, Liberman JA, LaMantia AS. Neural development, cell-cell signaling and the „two hit“ hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Bull* 2001;27:457-76.
127. McAfoose J, Baune BT. Evidence for cytokine model of cognitive function. *Neurosci Biobehav Rev* 2009; 33:355-66.

128. McCarty MF. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: down-regulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. *Med Hypotheses*. 1999; 52: 465–77.
129. Medina S, Martinez M, Hernanz A. Antioxidants inhibit the human cortical neuron apoptosis induced by hydrogen peroxide, tumor necrosis factor alpha, dopamine and beta-amyloid peptide 1-42. *Free Radic.Res* 2002; 36:1179-84.
130. Merrill JE, Murphy SP. Inflammatory events at the blood brain barrier: regulation of adhesion molecules, cytokines and chemokines by reactive nitrogen and oxygen species. *Brain Behav Immun* 1997; 11:245-63.
131. Michie HR, Spriggs DR, Manogue KR, Sherman ML, Revhaug A, O'Dwyer ST et al. Tumor necrosis factor and endotoxin induce similar metabolic responses in human beings. *Surgery* 1988;104:280-6.
132. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-Analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry* 2011; 70:663-71.
133. Miller LC, Isa S, LoPreste G, Schaller JG, Dinarello CA. Neonatal Interleukin-1beta, Interleukin-6, and tumor necrosis factor: cord blood levels and cellular production. *J Pediatr* 1990; 117: 961-5.

134. Mittleman BB, Castellanos FX, Jacobson LK, Rapport JL, Sewdo SE, Shearer GM. Cerebrospinal fluid cytokines in pediatric neuropsychiatric disease. *J Immunol* 1997; 159:2994-9.
135. Monteleone P, Fabrazzo M, Tortorella A, Maj M. Plasma levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in chronic schizophrenia: effects of clozapine treatment. *Psychiatr Res* 1997; 71:11-7.
136. Monji A, Kato T, Kanba S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 63: 257-65.
137. Mukherjee S, Mahadik SP, Korenovsky A, Laev H, Schnur DB, Reddy R. Serum antibodies to nicotinic acetylcholine receptors in schizophrenic patients. *Schizophr Res* 1994; 12:131-6.
138. Müller N, Ackenheil M. Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: Implications for psychiatric disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacol&Biol.Psychiat* 1998;22:1-33.
139. Muller N, Myint AM, Schwarz MJ. The impact of neuroimmune dysregulation on neuroprotection and neurotoxicity in psychiatric disorders-relation to drug treatment. *Dialogues Clin Neurosci* 2009; 11(3)319-32
140. Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. The role of immune function in schizophrenia: An overview. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999; 249(Suppl.4):62-9.

141. Müller N, Riedel M, Gruber R, Ackenheil M, Schwarz MJ. The immune system and schizophrenia. An integrative view. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 917: 456-67.
142. Muller N, Riedel M, Schwartz MJ, Engel RR. Clinical effect of COX-2 inhibitors on cognition in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2005; 255: 149-51.
143. Muller N, Schwarz MJ. A psychoneuroimmunological perspective to Emil Kraepelins dichotomy: schizophrenia and major depression as a inflammatory CNS disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2008; 258:97-106
144. Müller N, Schwarz MJ. Immunology in schizohrenic disorders. *Nervenarzt* 2007; 78: 253-6,258-60,262-3
145. Müller N, Schwarz MJ. The immunological basis of glutamatergic disturbance in schizophrenia:towards an integrative view. *J Neural Transm Suppl* 2007;;269-80.
146. Na KS, Kim YK. Monocytic, Th1 and Th2 cytokine alternations in the pathopsysiology of schizophrenia.*Neuropsychobiology* 2007;56:55-63
147. Narayan S, Tang B, Head SR, Gilmartin TJ, Sutcliffe JG, Dean B et al. Molecular profiles of schizophrenia in the CNS at different stages of illness. *Brain Res* 2008; 1239:235-48.

148. Naudin J, Capo C, Giusano B, Mège JL, Azorin JM. A differential role for interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in schizophrenia? *Schizophr Res* 1997; 26: 227-33.
149. Nawa H, Takei N. Recent progress in animal modeling of inflammatory process in schizophrenia: implications of specific cytokines. *Neurosci Res* 2006; 56:2-13.
150. Nikkila HV, Muller K, Ahokas A, Rimon R, Andersson LC. Increased frequency of activated lymphocytes in the cerebrospinal fluid of patients with acute schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; 49:99-105.
151. Norris JG, Benveniste EN. Interleukin 6 production by astrocytes: induction by the neurotransmitter norepinephrine. *J Neuroimmunol* 1993; 45:137-46.
152. O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG. Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Hum Psychopharmacol* 2004; 19:397-403.
153. O'Brien SM, Scully P, Dinan TG. Increased tumor necrosis factor -alfa concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbation of schizophrenia. *Psychiatry Res* 2008; 160:256-62.
154. Pace TW, Hu F, Miller AH. Cytokine effects on glucocorticoid receptor function: relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression. *Brain Behav Immun* 2007; 21:9-19.

155. Pae CU, Yoon CH, Kim TS, Kim JJ, Park SH, Lee CU et al. Antipsychotic treatment may alter T-helper (TH) 2 arm cytokines. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 666-71.
156. Pavlović D. Depresija i demencija. *Engrami* 2002; 24(3-4):63-80.
157. Perry VH. The influence of systematic inflammation on inflammation in the brain: implications for chronic neurodegenerative disease. *Brain Behav Immun* 2004; 18:407-413.
158. Perz-Neri I, Ramirez -Bermudez J, Montes S, Rios C. Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. *Neurochem Res* 2006; 31:1279-94.
159. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry*. 2008 Apr 15;63(8):801-8.
160. Rakic S, Zecevic N. Programmed cell death in the developing human telencephalon. *J Neurosci* 2000; 12:2721-2734.
161. Rapaport MH, Manji HK. The effects of lithium on ex vivo cytokine production. *Biol Psychiatry* 2001; 50: 217-24.
162. Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A, Lesch KP. Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 2006; 11:514-22.

163. Rezaie P, Male D. Mesoglia & microglia-a historical review of the concept of mononuclear phagocytes within central nervous system. *J Hist Neurosci* 2002; 11:325-74.
164. Riced D, Barone S Jr. Critical periods of vulnerability for developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* 2000; 108:511-33.
165. Robertson GS, Hori SE, Powell KJ. Schizophrenia: an integrative approach to modeling a complex disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2006; 31:157-67.
166. Rothermundt M, Arolt V, Fenker J, Gutbrodt H, Peters M, Kirchner H. Different immune patterns in melancholic and non-melancholic major depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2001; 251:90-7.
167. Rothermundt M, Arolt V, Peters M, Gutbrodt H, Fenker J, Kersting A, Kirchner H. Inflammatory markers in major depression and melancholia. *J Affect Disord* 2001; 63: 93–102.
168. Satoh T, Nakamura S, Taga T, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T, Kaziro Y. Induction of neuronal differentiation in PC12 cells by B-cell stimulatory factor 2 rinterleukin 6. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 3546–9.
169. Schefer TM, Desouza K, Fahey JV, Beagley KW, Wira CR. Toll like receptor(TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production bz human uterine epithelial cells. *Immunology* 2004; 112:428-36.

170. Schiepers OJG, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 201-17.
171. Schmitt A, Bertsch T, Tost H, Bergmann A, Henning U, Klimke A, Falkai P. Increased serum interleukin-1beta and interleukin-6 in elderly, chronic schizophrenic patients on stable antipsychotic medication. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2005;1:171-7.
172. Schneider H, Pitossi F, Balschun D, Wagner A, del Rey A, Besedovsky HO. A neuromodulatory role of interleukin-1beta in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:7778-7783.
173. Schöbitz B, De Kloet ER, Holsboer F. Gene expression and function of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in the brain. *Prog Neurobiol.* 1994; 44:397-432
174. Schwarz C, Volz A, Li C, Leucht S: Valproate for Schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 3: CD004028.
175. Schwarz MJ, Chiang S, Muller N, Ackenheil M. T-helper -1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain Behav Immun* 2001; 15:340-370.
176. Seidel A, Rothermundt M, Rink L. Cytokine production in depressive patients. In: Danzer R, Wollman EE, Yiriyia R (Eds). *Cytokines, Stress and Depression.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999, pp47-57.
177. Shima S, Yano K, Sugiura M, Tokunaga Y. Anticerebral antibodies in functional psychoses. *Biol Psychiatry* 1991; 29:322-8.



178. Singh B, Bera NK, Nayak CR, Chaudhuri TK. Decreased serum levels of interleukin-2 and interleukin -6 in Indian Bengalee schizophrenic patients. *Cytokine* 2009;47:1-5.
179. Sluzewska A, Sobieska M, Rybakowski JK. Changes in acute-phase proteins during lithium potentiation of antidepressants in refractory depression. *Neuropsychobiology* 1997; 35: 123-7.
180. Słuzewska A, Rybakowski JK, Laciak M, Mackiewicz A, Sobieska M, Wiktorowicz K. Interleukin-6 serum levels in depressed patients before and after treatment with fluoxetine. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1995; 762: 474-6.
181. Soliven B, Albert J. Tumor necrosis factor modulates the inactivation of catecholamine secretion in cultured sympathetic neurons. *J Neurochem* 1992; 58: 1073-8.
182. Song C, Merali Z, Anisman H. Variations of nucleus accumbens dopamine and serotonin following systematic interleukin-1, interleukin-2 and interleukin-6 treatment. *Neuroscience* 1999; 88:823-36
183. Song C, Lin A, Kenis G, Bosmans E, Maes M. Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. *Schizophr Res* 2000; 42: 157-64.
184. Stefanis CN, Theodoropoulou-Vaidaki S, Baxevanis CN, Spanakos G, Papadopoulos NG, Economou M et al. Investigation of immune parameters in never

- medicated and chronically medicated schizophrenic patients. *Neuropsychopharmacology* 1994; 10: S80-S366.
185. Steiner J, Biela H, Brisch R, Danos P, Ullrich O, Mawrin C et al. Immunological aspect in the neurobiology of suicide. Elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *J Psychiatr Res* 2008; 42:151-7.
186. Steiner J, Mawrin C, Ziegeler A, Biela H, Ullrich O, Bernstein HG et al. Distribution of HLA-DR positive microglia in schizophrenia reflects impaired cerebral lateralisation. *Acta Neuropathol* 2006; 112:305-16.
187. Stellwagen D, Malenka RC. Synaptic scaling mediated by glial TNF- $\alpha$ . *Nature* 2006; 440:1054-9.
188. Stöber G, Ben-Shachar D, Cardon M, Falkai P, Fonteh AN, Gawlik M et al. Schizophrenia: From the brain to peripheral markers. A consensus paper of WFSBP task force on biological markers. *The World J Biol Psychiatry* 2009;10:127-155.
189. Stolina M, Sharma S, Lin Y, Dohadwala M, Gardner B, Luo J et al. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J Immunol* 2000; 164:361-70.
190. Stone TW, Darlington LG. Endogenous kynurenes as targets for drug discovery and development. *Nat Rev* 2002; 1:609-20.

191. Streit WJ, Mrak RE, Griffin WST. Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. *Journal of Neuroinflammation* 2004; 1:14:1-4.
192. Sunico CR, Portillo F, Gonzales-Forero D, Moreno-Lopez B. Nitric-oxide-directed synaptic remodeling in the adult mammal CNS. *J Neurosci* 2005; 25:1448-58.
193. Tanaka S, Matsunaga H, Kimura M et al. Autoantibodies against four kinds of neurotransmitter receptors in psychiatric disorders. *J Neuroimmunol* 2003; 141:155-64.
194. Theodoropoulou S, Spanakos G, Baxevanis CN, Economou M, Gritzapis AD, Papamichail MP et al. Cytokine serum levels, autologous mixed lymphocyte reaction and surface marker analysis in never medicated and chronically medicated schizophrenic patients. *Schizophr Res* 2001; 47: 13-25.
195. Tiihonen J, Wahlbeck K & Kiviniemi V: The efficacy of lamotrigine in clozapine-resistant schizophrenia: a systematic review and meta analysis. *Schizophr Rev* 2009; 109: 10-4.
196. Toker S, Shirom A, Shapira I, Berliner S, Melamed S. The association between burnout, depression, anxiety, and inflammation biomarkers: C-reactive protein and fibrinogen in men and women. *J. Occup. Health. Psychol.* 2005; 10:344-62.

197. Tuglu C, Kara SH, Caliyurt O, Vardar E, Abay E. Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. *Psychopharmacology* 2003; 170: 429–33.
198. Ullian EM, Christopherson KS, Barres BA. Role for glia in synaptogenesis. *Glia* 2004; 47:209-16.
199. Ushiroyama T, Ikeda A, Ueki M. Elevated plasma interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor concentrations in menopausal women with and without depression. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 79: 51-2.
200. Van Wagoner NJ, Benveniste EN. Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. *J Neuroimmunol* 1999; 100:124-39.
201. Volz A, Khorsand V, Gillies D, Leucht S. Benzodiazepines for Schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 1: CD006391.
202. Wang JP, Dunn AJ. Mouse interleukine -6 stimulates the HPA axis and increases brain tryptophan and serotonin metabolism. *Neurochem Int* 1998; 33:143-54.
203. Watanabe Y, Someya T, Nawa H. Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: Evidence from human studies and animal models. *Psychiatry and Clinical Neuroscience* 2010; 64:217-30.
204. Wickert WA, Campbell NR, Martin L. Acute severe adverse clozapine reaction resembling systemic lupus erythematosus. *Postgrad Med J* 1994; 70:940-1.

205. Wright P, Sham PC, Gilvarry CM, Jones PB, Cannon M, Sharma T et al. Autoimmune diseases in the pedigrees of schizophrenic and control subjects. *Schizophr Res.* 1996; 20:261-7.
206. Xia Z, DePierre JW, Nassberger L. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL-1 beta and TNF alpha release in human blood monocytes and IL-2 and interferon-gamma in T cells. *Immunopharmacology* 1996; 34:27-37.
207. Xu HM, Wei J, Hemmings GP. Changes of plasma concentrations of interleukin-1 alpha and interleukin-6 with neuroleptic treatment for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1994;164: 251-3.
208. Yirmiya R. Depression in medical illness. The role of the immune system. *West J Med* 2000; 173:333-6.
209. Yu HM, Yuan TM, Gu WZ, Li JP. Expression of glial fibrillary acidic protein in developing rat brain after intrauterine infection. *Neuropathology* 2004; 24: 136-43.
210. Yudkin JS. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27 Suppl 3:S25-8.
211. Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H et al. Cytokine-specific central monoamine alterations induced by Interleukine-1, -2, and -6. *Brain Res* 1994;643:40-9

212. Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H et al. Cytokine -specific central monoamine alternations induced by IL-1,-2 and -6- Brain Res 1994; 643:40-9.
213. Zalcman S, Murray L, Dyck DG, Greenberg AH, Nance DM. Interleukin 2 and -6 induce behavioral activating effects in mice. Brain Res 1998; 811:111-21.
214. Zhang XY, Cao LY, Song C, Wu GY, Chen da C, Qi LY et al. Lower serum cytokine levels in smokers than nonsmokers with chronic schizophrenia on long-term treatment with antipsychotics. Psychopharmacology 2008; 201: 383-9.
215. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Wu GY, Shen YC. Cortisol and cytokines in chronic and treatment-resistant patients with schizophrenia: association with psychopathology and response to antipsychotics. Neuropsychopharmacology 2005; 30: 1532-8.
216. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY, Shen YC. Changes in serum interleukin-2, -6, and -8 levels before and during treatment with risperidone and haloperidol: relationship to outcome in schizophrenia. J Clin Psychiatry 2004; 65: 940-7.
217. Zhang XY, Zhou DF, Zhang PY, Wu GY, Cao LY, Shen YC. Elevated interleukin-2, interleukin-6 and interleukin-8 serum levels in neuroleptic-free schizophrenia: association with psychopathology. Schizophr. Res 2002; 57: 247-58.
218. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, Periante CM. Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011;35(3):722-9.

219. Zvara A, Szekeres G, Janka Z et al. Over expression of dopamine D2 receptor and inwardly rectifying potassium channel genes in drug naive schizophrenic peripheral blood lymphocytes as a potential diagnostic markers. *Dis Markers* 2005; 21:61-9.

## **Biografija autora**

Bojana Dunjić-Kostić rođena je 1978 godine u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1997/98 godine, a diplomirala 2004 godine sa prosečnom ocenom 9.46. U nekoliko navrata proglašavana je za jednog od najboljih studenata svoje generacije. Od 2006 godine zaposlena je na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije kao klinički lekar. 2007 godine magistrirala iz oblasti Psihijatrija –smer Socijalna psihijatrija. Od 2008 godine je na specijalizaciji iz Psihijatrije. U procesu je edukacije iz Racionalno-emocionalno bihevioralne terapije. Objavila nekoliko naučnih radova u stranim i domaćim časopisima.



Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписанич Ђуџић Костић Војена

број уписа \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Улога одређивања интерлеукина 6 и факторе некрозе  
тупоре код оболелих од шизофреније

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду,

13.05.2013

Потпис докторанда

Ђуџић Костић Војена

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Munjić Kostić Bojana  
Број уписа \_\_\_\_\_  
Студијски програм Medicina Psihijatrije  
Наслов рада Značaj određivanja interleukina 6 i faktora nekroza  
tumora kod obolelih od shizofrenije  
Ментор Prof. dr. Nikola Jęšević Čekić  
Кoментор: Prof. dr. Nataša Petrović  
Потписани Munjić Kostić Bojana

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 13.03.2013

Потпис докторанда

Munjić Kostić Bojana

Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

~~Значеј одређивања interleukine-6 и фактора некрозе  
тумора код оболелих од шизофреније~~

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 13.03.2013

Дујан Милошевић