

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Slobodan S. Kapor**

**MORFOLOŠKE PROMENE U DOPAMINERGIČKIM STRUKTURAMA MOZGA PACOVA  
USLOVLJENE MATERNALNOM DEPRIVACIJOM**

**doktorska disertacija**

**Beograd, 2021**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MEDICINE**

**Slobodan S. Kapor**

**MORPHOLOGICAL CHANGES IN DOPAMINERGIC STRUCTURES OF THE RAT BRAIN  
CONDITIONED BY MATERNAL DEPRIVATION**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2021**

Mentor : dr Milan Aksić, docent  
Medicinski Fakultet Univerziteta u Beogradu

Komentor : dr Marin Jukić, docent  
Farmaceutski Fakultet Univeziteta u Beogradu

Članovi komisije : dr Laslo Puškaš, redovni profesor  
Medicinski Fakultet Univerziteta u Beogradu

dr Dubravka Aleksić, docent  
Medicinski Fakultet Univerziteta u Beogradu

dr Biserka Vukomanović – Đurđević, vanredni profesor  
Medicinski Fakultet Univeziteta Odbrane – VMA

Datum odbrane :

Zahvaljujem se

Prof. dr Laslu Puškašu, svom životnom mentoru i učitelju od početka moje karijere. Nesebična podrška prof. Puškaša dala je neizmeran doprinos izradi ove disertacije.

Doc.dr Milanu Aksiću, svom mentoru, čija mi je naučna vizija još od studentskih dana bila inspiracija u naučnom radu ispunjena toplinom i prijateljskom atmosferom.

Doc.dr Marinu Jukiću, svom komentoru, koji mi je pružio veliku podršku i omogućio realizaciju ove disertacije.

Upokojenom prof. dr Branislavu Filipoviću, čiji su mi znanje, saveti i prijateljski odnos pomogli u stručnom usavršavanju.

Članovima komisije na dragocenim savetima, podršci i strpljenju.

dr Joki Poleksiću i dr Sunčici Kapor za pomoć i podršku u laboratorijskom radu.

Svim članovima Instituta za anatomiju „Niko Miljanić“.

Svojoj porodici i dragim prijateljima, koji su uvek verovali u mene i podržali svaku moju odluku i izbor.

## **Morfološke promene u dopaminergičkim strukturama mozga pacova uslovljene maternalnom deprivacijom**

**Uvod :** Maternalna deprivacija (MD) predstavlja rano odvajanje mladunaca od majke i opšte prihvaćeni animalni model stresa. Rana traumatična iskustva tokom života izazivaju dugotrajne promene u mozgu koje mogu potrajati i kasnije u životu. Ove promene su sastavni deo etiologije psihijatrijskih poremećaja. Faktori kao što su stres i pothranjenost kod majke tokom fetalnog razvoja, se razmatraju kao dopunski faktori rizika u nastanku shizofrenije. Cilj ovog istraživanja je bio da se ispituju dugotrajne morfološke promene u dopaminergičkim strukturama mozga adolescentnih i adultnih pacova nakon maternalne deprivacije.

**Materijal i metode :** U eksperimentima su korišćeni pacovi muškog pola soja Wistar. Dan porođaja smo označili kao nulti postnatalni dan (PN 0). Devetog postnatalnog dana (PN 9) legla smo podvrgnuli 24-časovnoj maternalnoj deprivaciji. Životinje su žrtvovane trideset i petog (PN 35) i šezdesetog postnatalnog dana (PN 60) kako bi se ispitale dugotrajne posledice MD. Mikroskopske morfometrijske metode su korišćene za merenje volumena dopaminergičkih jedara, broja i gustine TH+ neurona u jedrima. Biohemijske metode su korišćene za određivanje koncentracije kortikosterona u krvi ispitivanih životinja. Volumen dopaminergičkih jedara i broj dopaminergičkih neurona u *substantia-nigra* (SN), ventralnom tegmentalnom području (VTA) i *locus coeruleus* (LC) analizirani su u tri stereotaksičke koordinate u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma.

**Rezultati :** Ključni rezultati ovog istraživanja su da adolescentni i adultni mozak pacova podleže promenama u ispitivanim parametrima koje su prouzrokovane stresom u ranom životnom periodu, praćenim povišenjem nivoa kortikosterona u krvi. Takođe, MD je prouzrokovala gubitak telesne težine u juvenilnom, adolescentnom i adultnom periodu života. Konkretno, maternalna deprivacija povećava volumen svih dopaminergičkih jedara i ukupan broj dopaminergičkih neurona u njima u periodu adolescencije i odrasle dobi.

**Zaključak :** Postnatalno odvajanje mladunaca od majke prouzrokovalo je nepravilan razvoj dopaminergičkog sistema, za koji se pretpostavlja da igra ulogu u patologiji psihijatrijskih bolesti. Ovo istraživanje korelira sa dopaminskom teorijom nastanka shizofrenije.

**Ključne reči :** maternalna deprivacija, dopamin, substantia nigra, ventralna tegmentalna area, locus coeruleus

Naučna oblast : medicina

Uža naučna oblast : neuronauke

UDK broj :

## **Morphological changes in dopaminergic structures of the rat brain conditioned by maternal deprivation**

**Background :** Maternal deprivation (MD) is the early separation of pups from the mother and generally accepted animal model of stress. Early traumatic experiences during life cause long-term changes in the brain that can last later in life. These changes are an integral part of the etiology of psychiatric disorders. Factors such as maternal stress and malnutrition during fetal development are considered as additional risk factors in the development of schizophrenia. The aim of this study was to examine long-term morphological changes in the dopaminergic brain structures of adolescent and adult rats after maternal deprivation.

**Material and Methods :** Male Wistar rats were used in the experiments. We marked the day of delivery as zero postnatal day (PN 0). On the ninth postnatal day (PN 9), we subjected the litter to 24-hour maternal deprivation. Animals were sacrificed on the thirty-fifth (PN 35) and sixtieth postnatal day (PN 60) to investigate the long-term consequences of MD. Microscopic morphometric methods were used to measure the volume of dopaminergic nuclei, the number and density of TH + neurons in the nuclei. Biochemical methods were used to determine the concentration of corticosterone in the blood of the tested animals. The volume of dopaminergic nuclei and the number of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN), ventral tegmental region (VTA) and locus coeruleus (LC) were analyzed in three stereotaxic ranges relative to the craniometric point bregma.

**Results :** The key results of this study are that the adolescent and adult brains of rats undergo changes in the examined parameters caused by stress in early life, followed by an increase in corticosterone levels in the blood. Also, MD caused weight loss in the juvenile, adolescent and adult periods of life. In particular, maternal deprivation increases the volume of all dopaminergic nuclei and the total number of dopaminergic neurons in them during adolescence and adulthood.

**Conclusion :** Postnatal separation of pups from the mother caused an improper development of the dopaminergic system, which is assumed to play a role in the pathology of psychiatric diseases. This research correlates with the dopamine theory of schizophrenia

**Key words :** maternal deprivation, dopamine, substantia nigra, ventral tegmental area, locus coeruleus

Scientific area : medicine

Narrow scientific field : neuroscience

UDK number :

# SADRŽAJ

UVOD .....	11
1. Dopaminergički sistem.....	1
1.1.  Anatomska organizacija bazalnih ganglija .....	1
Repato jedro ( <i>nc. caudatus</i> ).....	1
Ljuska ( <i>putamen</i> ).....	2
Bledo jedro ( <i>globus pallidus</i> ) .....	2
Subtalamičko jedro ( <i>nc. subthalamicus</i> ) .....	5
Crna masa ( <i>substantia nigra</i> ) .....	5
Osnovni neuronski krugovi i funkcije bazalnih ganglija.....	6
Motorni neuronski krugovi.....	7
Direktni motorni krug.....	8
Indirektni motorni krug .....	9
Kortiko-strijato-nigralni krug. ....	9
1.2.  Dopaminergička jedra i projekcije u više centre .....	9
1.3.  Dopamin kao neurotransmiter .....	12
1.4.  Dopaminska teorija nastanka shizofrenije .....	13
2. Noradrenergički sistem.....	15
2.1. Noradrenalin kao neurotransmiter .....	15
2.2. Noradrenergička jedra .....	16
2.3. Uloga noradrenalina u nervnom sistemu .....	17
3.  Animalni modeli.....	18
3.1.  Definicija animalnih modela .....	18
3.2.  Maternalna deprivacija kao animalni model.....	21
CILJEVI .....	23
MATERIJAL I METODE .....	25
Doktorska disertacija je urađena na Institutu za anatomiju “Niko Miljanić” medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.....	26
Eksperimentalne životinje .....	26
Tretiranje životinja .....	26
Priprema tkiva za imunohistohemijsko bojenje.....	27
Opšti protokol za tirozin - hidroksilaza imunohistohemijsko bojenje .....	27
Ispitivanje morfoloških promena dopaminergičkih jedara .....	28
Merenje volumena dopaminergičkih jedara .....	28
Brojanje TH <sup>+</sup> neurona u volumenu ispitivanih dopaminergičkih jedara .....	29
Ispitivanje gustine TH <sup>+</sup> neurona u dopaminergičkim jedrima .....	30
Određivanje koncentracije kortikosterona u krvi .....	31
Statistička obrada.....	31

REZULTATI .....	32
1. Uticaj maternalne deprivacije na koncentraciju kortikosterona u krvi kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan i adultnih pacova – 60 postnatalni dan .....	33
2. Uticaj maternalne deprivacije na telesnu težinu životinja u neonatalnom periodu – 9 postnatalni dan , juvenilnom periodu – 21 postnatalni dan , adolescentnom periodu – 35 postnatalni dan i adultnom periodu – 60 postnatalni dan.....	34
3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen dopaminergičkih struktura kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	35
3.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	35
3.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen ventralne tegmentalne areae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	37
3.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	40
4. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen dopaminergičkih struktura kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	44
4.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	44
4.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen ventralne tegmentalne areae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	46
4.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	49
5. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	53
5.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	53
5.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	55
5.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	58
6. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan .....	64
6.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	64
6.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	66
6.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	69
7. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	75
7.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	75
7.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	76



7.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona ventralne tegmentalne areae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	77
8. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan .....	78
8.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	78
8.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	79
8.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan .....	80
9. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen locusa coeruleusa kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	82
10. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen locusa coeruleusa kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	85
11. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	88
12. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan .....	90
13. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan.....	93
14. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan.....	94
DISKUSIJA.....	95
ZAKLJUČCI .....	106
LITERATURA.....	109

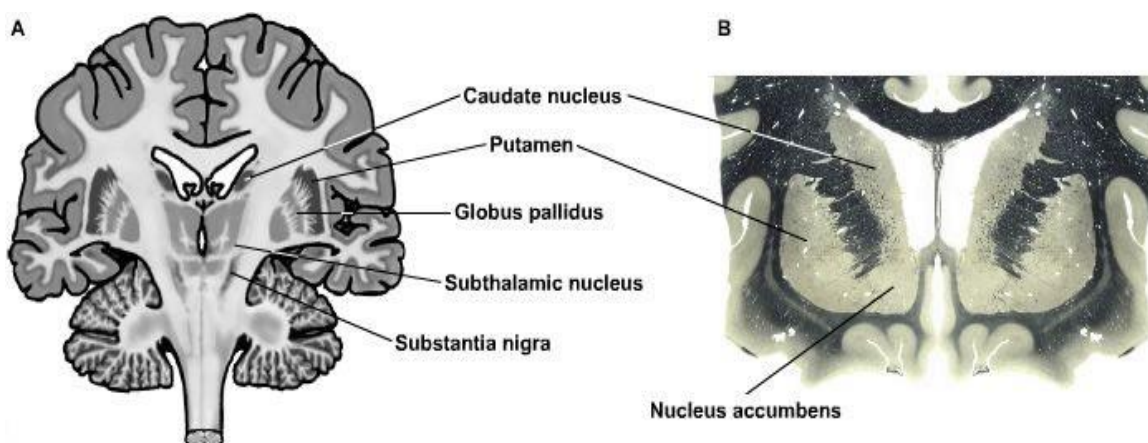
**Ovaj rad posvećujem svojoj porodici**

**UVOD**

## 1. Dopaminergički sistem

### 1.1. Anatomska organizacija bazalnih ganglija

Bazalne ganglije (Slika 1.) obuhvataju ona subkortikalna jedra velikog mozga koja primarno učestvuju u motornim funkcijama : repato jedro (*nc. caudatus*), ljusku (*putamen*) i bledo jedro (*globus pallidus*). Njima se priključuju dve niže postavljene formacije, subtalamičko jedro (*nc. subthalamicus*) i crna masa (*substantia nigra*). Putamen i globus pallidus morfološki obrazuju sočivasto jedro (*nc. lentiformis*). Pored ove morfološke podele bazalnih ganglija, često se koristi evolutivna, embrionalna i funkcionalna podela, prema kojoj postoje *corpus striatum* ili *neostriatum* i *paleostriatum*. Neostrijatum obuhvata *nc. caudatus* i *putamen*, a paleostrijatum predstavlja *globus pallidus* (skraćeno se naziva i *pallidum*). Najveći deo ovih struktura naziva se dorzalni strijatum (Afifi i Bergman, 2005). S druge strane, ventralno područje neostrijatuma, koje obuhvata donji deo putamena i glavu *nc. caudatus-a*, kao i *nc. accumbens-a* u septalnom području, naziva se ventralni strijatum (*striatum ventrale*) (Price DL u Kandel i sar., 2000). Drugi autori ventralnom strijatumu priključuju i *tuberculum olfactorium* (OTub) (Afifi i Bergman, 2005).



Slika 1. Strukture bazalnih ganglija. (A) Shematski prikaz položaja komponenata bazalnih ganglija na frontalnom preseku mozga. (B) Imunohistohemijski prikaz bazalnih ganglija na frontalnom preseku mozga. Slika je preuzeta iz publikacije : Neuroanatomy online. Section 3 : Motor System; Chapter 4: Basal ganglia (James Knierim, Ph.D., Department of Neuroscience, The Johns Hopkins University)

#### Repato jedro (*nc. caudatus*)

Repato jedro (*nucleus caudatus*) ima oblik latiničnog slova C koje leži u centru hemisfere velikog mozga (*telencephalon*). Pruža se od baze frontalnog režnja, u nivou kolena žuljevito tela (*genu corpus*

*callosum-a*), do amigdaloidnog kompleksa (*corpus amygdaloideum*) temporalnog režnja. On prati bočnu komoru mozga, gradeći joj pojedine zidove. U odnosu na putamen, repato jedro je postavljeno medijalno i od njega je odvojen odgovarajućim delovima unutrašnje kapsule (*capsula interna*) (Carpenter i sar., 1996; Puškaš i sar., 2021).

Repato jedro ima glavu (*caput*), telo (*corpus*) i rep (*cauda*). Glava predstavlja prošireni rostralni deo repatog jedra, koji gradi lateralni zid frontalnog roga bočne komore (*ventriculus lateralis-a*). Glava repatog jedra je odvojena od putamena snopovima prednjeg kraka *capsula interna-e*. Telo obilazi oko dorzolateralnog dela talamusa i gradi ventrolateralni zid bočne komore. Telo je odvojeno od *nc. lentiformis-a* kolenom i zadnjim krakom *capsula interna-e*. Rep je najtanji deo koji u velikom luku obilazi oko lateralnog dela pulvinara talamusa i završava se u zidu temporalnog roga bočne komore, uz kaudalni deo *corpus amygdaloideum-a* (Carpenter i sar. 1996)

### **Ljuska (*putamen*)**

Putamen je najveći deo neostriyatuma. Posедуje gotovo iste embrionalne i funkcionalne karakteristike kao repato jedro. Inače, latinska reč *putamen* koristila se za označavanje kore drveta, ljuske oraaha ili jajeta i sl. (Skinner 1970). Prostorno, putamen ima oblik zarubljene kupe sa osnovom ispupčenom prema bedemu (*claustrum*), a vrhom udubljenim prema bazi globus palidus-a. Bazu putamena odvaja od bedema spoljašnja kapsula (*capsula externa*). Između vrha putamena i paliduma pruža se tanak beli sloj *lamina medullaris externa*. Ventralno od putamena smenjuju se razne strukture: “*the basal forebrain*”, *corpus amygdaloideum*, *capsula interna* (sublentiformni deo). Dorzalno od putamena leže snopovi vlakana *capsula interna-e* i zrakaste krune (*corona radiata*). Rostralni deo putamena spojen je sa glavom repatog jedra. U nivou spoja leži proširenje, *nc. accumbens*, koje pripada i bazalnim ganglijama i limbičkom sistemu (Kandel i sar., 2000). Iza kaudalnog dela putamena prolazi retrolentiformni deo unutrašnje kapsule, a ispod istog dela nalazi se sublentiformni deo.

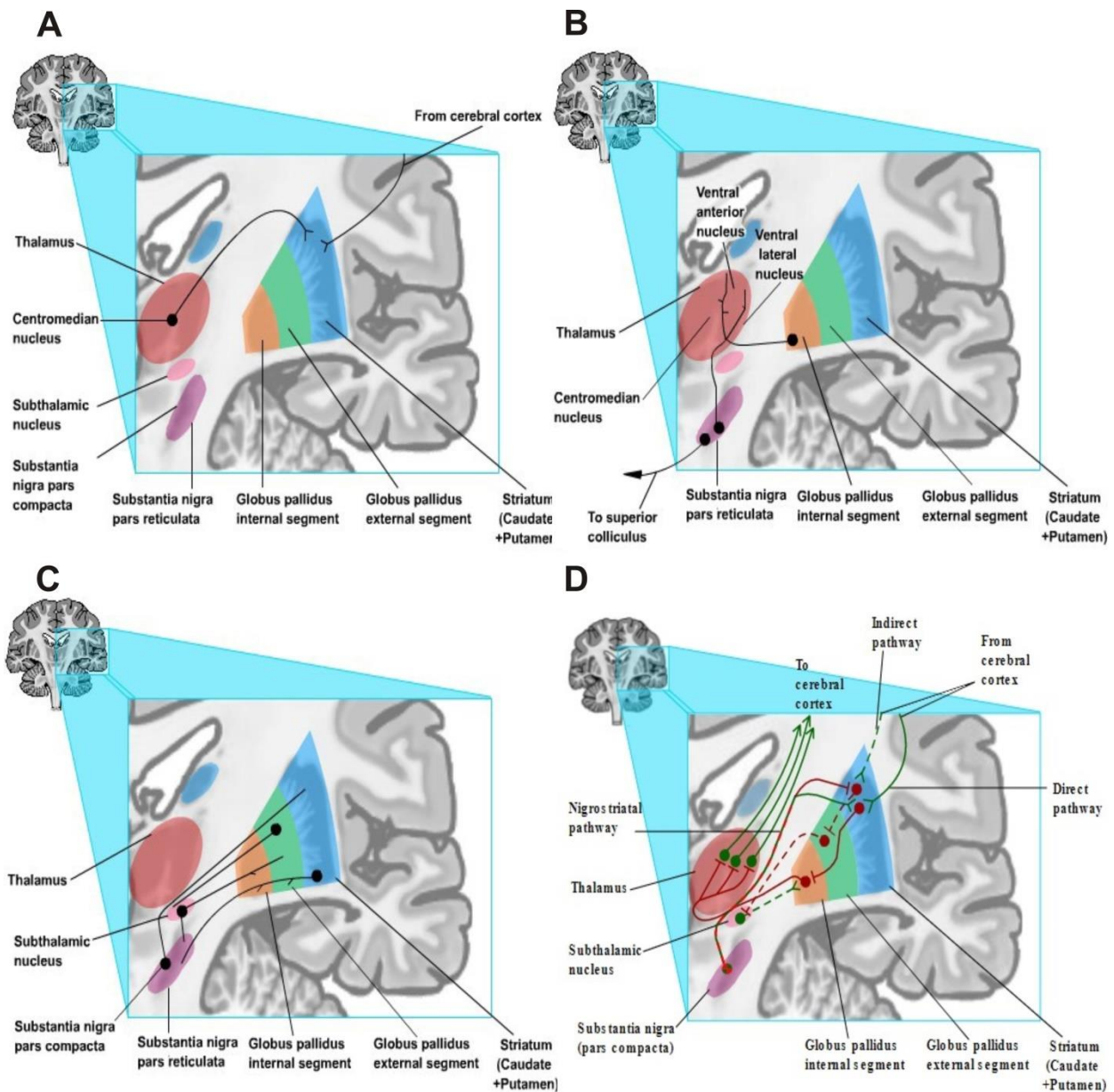
### **Bledo jedro (*globus pallidus*)**

*Globus pallidus* – GP (*pallidum* ili *palleostriatum*) ima oblik kupe sa zaobljenom bazom. Zbog velikog broja aksona koji kroz njega prolaze (Carpenter i sar., 1996), svetliji je od ostalih bazalnih ganglija, te je zato dobio latinski naziv *pallidus* (bled). GP se po embrionalnim i strukturnim karakteristikama potpuno razlikuje od neostriyatuma. On ima oblik kupe sastavljene spoljašnjeg i unutrašnjeg segmenta (Carpenter i sar., 1996; Kandel i sar., 2000) između kojih se nalazi *lamina medullaris interna*. Globus palidus je različit u raznih sisara (Afifi i Bergman, 2005). Primati imaju isti

*globus pallidus* kao i čovek. Lateralno se prostire do zarubljenog vrha *putamen*-a, od kojeg ga odvaja *lamina medullaris externa*. Medijalno se pruža do lateralnog hipotalamusa i kolena *capsula interna*-e. Dorzalna strana je u kontaktu sa snopovima zadnjeg kraka unutrašnje kapsule. Ispod ventralne strane nalaze se “*the basal forebrain*”, *substantia innominata*, *nc.basalis Meynert*, *tr. opticus* i bademasto telo (*corpus amygdaloideum*)- *Amy* (Nieuwenhuys i sar. 1988). Kroz rostralni deo ventralnog regiona *globus pallidus*-a prolazi, prednja spojnica (*commissura anterior*). Kao što je spomenuto, blede jedro ima dva segmenta, medijalni i lateralni.

Medijalni segment bledeg jedra – GPm ili interni segment (GPi) predstavlja glavni “*output*” bazalnih ganglija, mada jedan deo vlakana napušta bazalne ganglije i kroz retikularni deo crne mase – *substantia nigra* (SNpr). Većina aksona ćelija u GPm (80%) daje kolaterale za moždano stablo i talamus. U moždanom stablu kolaterale se završavaju u tzv. ekstrapiramidnom polju blizu *nc. tegmenti pedunculopontinus*-a (PPT), koje se projektuje u motorni retikulospinalni sistem, kao i u *nc. habenularis lateralis*. Kolaterale za talamus (palidotalamička vlakna) su dvojake. Jedna grupa završava se u delu *nc. ventralis lateralis*-u (VLo) i *nc. ventralis anterior*-u (VApc). Ova dva jedra projektuju se zatim u primarno motorno polje i u premotorna polja korteksa. Vlakna za talamus najpre obrazuju dva snopa (*ansa lenticularis* i *fasciculus lenticularis*), koji prolaze kroz Forelova polja *subthalamus*-a, spajaju se i grade treći, zajednički snop, *fasciculus thalamicus* (Carpenter i sar., 1996). Preostalih 20% aksona iz GPm odlaze u intralaminarna jedra talamusa (*nc. centromedianus* i *nc. parafascicularis*). Medijalni segment globusa palidusa (GPm) jako je sličan retikularnom delu supstancije nigre (SNpr) (Squire i Zigmond, 2003). To jasno pokazuje i njihova somatotopska organizacija. Tako, ruka i noga su reprezentovani u GPm, a lice i oči u SNpr. Neuronu u GPm imaju visoku spontanu toničnu aktivnost nevezanu za pokrete. Najveći broj neurona u GPm povećava svoju aktivnost u toku pokreta.

Lateralni segment globusa palidusa – GPI ili eksterni segment (GPe) sadrži velike GABA-ergičke neurone. On prima praktično iste informacije kao i GPm (Squire i Zigmond, 2003). Naime, GPI dobija inhibitorna vlakna iz strijatuma (strijatopalidalna vlakna). Ove projekcije su konvergentne, tj. veći broj aksona iz strijatuma završava se na jednom neuronu u GPI. Divergentne projekcije dolaze iz *nc. subthalamicus*-a (subtalamopalidalna vlakna). Svaki akson iz ovog jedra završava se na većem broju neurona u GPI. Subtalamopalidalna vlakna predstavljaju ekscitatorne glutamatergičke aksone. Eferentna, GABA-ergička vlakna iz GPI završavaju se u medijalnom segmentu bledeg jedra (GPm) i u subtalamičkom jedru (palidosubtalamička vlakna). Istovremeno, GPI šalje svoje aksone i u retikularni deo *substantia nigra*-e (palidonigralna vlakna).



Slika 2. Anatomska organizacija bazalnih ganglija. A- prikaz aferentnih veza bazalnih ganglija; B- prikaz eferentnih veza bazalnih ganglija; C – Prikaz veza struktura koje ulaze u sastav bazalnih ganglija; D – Direktni, indirektni i strijatonigralni put bazalnih ganglija. Slika je preuzeta iz publikacije : Neuroanatomy online. Section 3 : Motor System; Chapter 4: Basal ganglia (James Knierim, Ph.D., Department of Neuroscience, The Johns Hopkins University)

### **Subtalamičko jedro (*nc. subthalamicus*)**

Subtalamičko jedro - STN (*nc. subthalamicus*) nalazi se u istoimenom području dijencefalona, neposredno dorzolateralno od *substantia nigra-e*. Sadrži fuziformne neurone, koji imaju ekscitatorni neurotransmiter glutamat. Aksoni STN-a predstavljaju jedina ekscitatorna projekciona vlakna bazalnih ganglija (Kandel i sar., 2003). STN dobija direktne aksone iz korteksa i to iz primarnog motornog polja, premotornog polja, suplementarnog motornog polja i frontalnog očnog polja. Ovi kortikosubtalamički aksoni jesu ekscitatorna glutamatergička vlakna. Inače, STN se u toku evolucije razvijao proporcionalno svojim vezama sa korteksom. STN dobija i veliki broj aferentnih vlakana iz lateralnog segmenta *globus pallidus-a* (GPI). Ova palidosubtalamička vlakna formiraju deo *fasciculus subthalamicus-a*. Manji broj aferentnih vlakana subtalamičkog jedra dolazi iz talamusa i retikularne formacije (Afifi i Bergman, 2005). Eferentna vlakna subtalamičkog jedra obuhvataju najpre veliki snop za lateralni segment *globus pallidus-a* (GPI). Ova ekscitatorna subtalamolalidna vlakna ulaze u sastav *fasciculus subthalamicus-a*. Najzad, subtalamonigralna vlakna, koja su glutamatergička, odlaze u *pars reticularis substantia nigra-e*.

### **Crna masa (substantia nigra)**

*Substantia nigra* (SN) je jedan od najvažnijih delova bazalnih ganglija. Ona pripada mezencefalonu i subtalamusu. Nalazi se na granici *crus cerebri* i *tegmentum mesencephali*. Zbog velike količine crnog pigmenta neuromelanina u svojim ćelijama, supstancija nigra je i dobila svoj naziv (*nigra* = crna) (Žepić, 1967). *Substantia nigra* ima dva dela: *pars compacta*- SNpc i *pars reticularis*- SNpr (Kandel i sar., 2000).

*Pars compacta* (SNpc) sadrži mnogo veći broj pigmentovanih ćelija i eferentnih vlakana nego *pars reticularis*. One sadrže razne neurotransmitere i neuromodule. Najvažniji neurotransmiter je dopamin koji se putem velikog nigrostrijatnog puta izlučuje u neostrijatumu. Nigrostrijatna vlakna za *caput nuclei caudati* polaze iz rostralnog dela SN-a, a vlakna za *putamen* potiču iz kaudalnog dela SN-a (Carpenter i sar., 1996). U supstanciji nigri i neostrijatumu nalazi se oko 80% od ukupne količine dopamina u mozgu. Dejstvo dopamina (DA) iz nigrostrijatnog snopa na neurone u strijatumu zavisi primarno od tipa receptora za koji se vezuje (Carpenter i sar., 1996). Svi receptori (D<sub>1</sub>-D<sub>5</sub>) deluju preko G proteina i adenilat ciklaze. Ukoliko se dopamin veže za D<sub>1</sub> i D<sub>5</sub> receptore, nastaće ekscitacija neurona, a ako se veže za druge receptore, nastupiće inhibicija. U citoplazmi dopaminergičkih neurona nalazi se i crni pigment neuromelanin, koji daje karakterističnu boju supstanciji nigri. Neuromelanin se nalazi u



lizozomnim granulama neurona. Predstavlja sporedni produkt metabolizma dopamina, koji nastaje oksidacijom i polimerizacijom dopamina. Kod osoba sa Parkinsonovom bolešću ovaj pigment nedostaje, pa *substantia nigra* nije crne boje.

*Pars reticularis* (SNpr) sadrži manji broj ćelija, koje su GABA-ergičkog, inhibitornog karaktera. SNpr je veoma slična medijalnom segmentu bledog jedra (Gpm), kako po neuronima i njihovim neurotransmiterima, tako i po vezama (Kandel i sar., 2000; Carpenter i sar., 1996). Sadrži velike neurone, koji dobijaju inhibitorne aksone iz neostriyatuma (striatonigralna vlakna). Vlakna iz *nc. caudatus*-a završavaju se u rostrlnom delu SN-a, a vlakna iz *putamen*-a u kaudalnom delu SN-a. SNpr dobijaju i ekscitatorne glutamatergičke aksone iz subtalamičkog jedra (subtalamonigralna vlakna). Kortikonigralna vlakna, koja su uglavnom indirektna, najvećim delom polaze iz frontalnog očnog polja (Kandel i sar., 2000). *Substantia nigra* dobija i aferentna vlakna iz mezencefalona i to serotonergičke aksone iz *nc. raphe dorsalis*-a i holinergička vlakna iz *nc. pedunculopontinus*-a. Aksoni samih GABA-ergičkih neurona u SNpr, tj. eferentna vlakna, ulaze u deo *nc. ventralis lateralis*-a (VLm) i *nc. ventralis anterior*-a (VAam) talamusa, kao i u *nc. centromedianus* (CM) i *nc. parafascicularis* (PF). Jedna grupa GABA-ergičkih aksona iz SNpr završava se u *colliculi superiores* mezencefalona (nigrotektalna vlakna), koji predstavljaju centar za sakadne pokrete očiju (Kandel i sar., 2000). Druga grupa aksona iz SNpr odlazi u deo *nc. mediodorsalis*-a talamusa (MDpl), iz kojeg se vlakna projektuju u frontalno očno polje (Carpenter i sar., 1996).

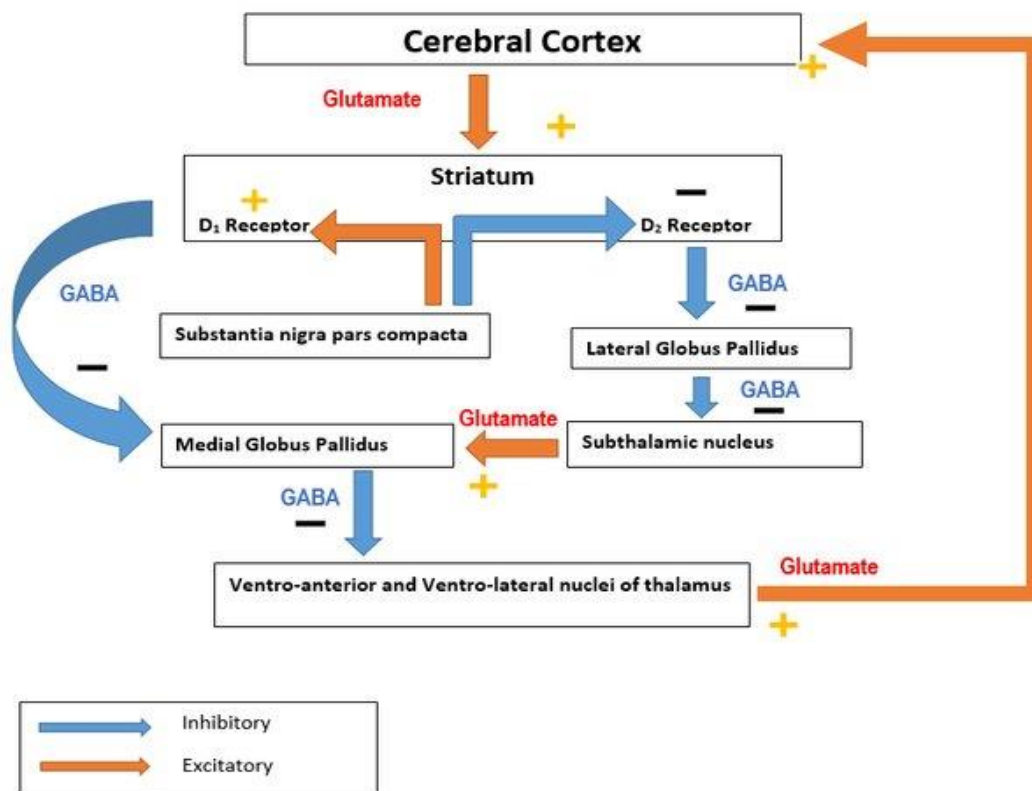
### **Osnovni neuronski krugovi i funkcije bazalnih ganglija**

Bazalne ganglije obavljaju dve osnovne funkcije, motornu i kognitivnu. Prema tome, međusobne veze bazalnih ganglija, kao i njihova komunikacija sa drugim strukturama CNS-a, imaju dva sistema neuronskih krugova, motorni i kognitivni (Carpenter i sar., 1996; Kandel i sar., 2000). Motorni krugovi uključeni su prvenstveno u regulaciju voljnih i automatskih pokreta. Naime, bazalne ganglije pojačavaju željeni, odabrani pokret, a suprimiraju druge, neželjene pokrete (Carpenter i sar., 1996). Isto tako, one mogu željeni pokret da pojačaju ili oslabe, zahvaljujući varijacijama u inhibitornoj aktivnosti u medijalnom segmentu bledog jedra. Najzad, bazalne ganglije, nakon započinjanja pokreta, važne su za automatsko izvršavanje sekvenci pokreta. Ove krugove bazalnih ganglija kliničari često opisuju kao deo ekstrapiramidnog motornog sistema (Adams i Victor, 1993). Svi ovi krugovi imaju aferentne i eferentne komponente koje mogu da budu, kako je spomenuto, ekscitatorne i inhibitorne. Na primer, neostriyatium dobija ekscitatorne glutamatergičke snopove iz korteksa, dopaminergičke projekcije iz supstancije nigre, serotoninergička vlakna iz *nuclei raphes* i projekcije iz intralaminarnih jedara talamusa. Istovremeno,

inhibitorni GABA-ergički neuroni neostrijatuma i *globus palidus-a* projektuju se u talamus, subtalamičko jedro, supstanciju nigru i u retikularnu formaciju moždanog stabla.

### Motorni neuronski krugovi

Svi ovi neuronski sistemi polaze iz motornih područja korteksa, tj. iz primarnog motornog, premotornog i suplementarnog motornog polja. Jedan deo aksona potiče iz somatosenzornog korteksa. U okviru glavnog sistema prisutni su i podsistemi za svako od navedenih područja kore. Istovremeno, postoji i somatotopska organizacija u sistemima. Na primer, kortikostrijatna vlakna su tako organizovana da je noga reprezentovana u dorzolateralnom delu putamena, orofacijalna muskulatura u ventromedijalnoj zoni, a ruka u delu putamena između prethodna dva područja (Carpenter i sar., 1996). Somatotopska organizacija postoji i u završnom, talamokortikalnom snopu. Postoje dve glavne grupe motornih neuronskih krugova bazalnih ganglija (Slika 3.). U prvoj grupi veze polaze iz korteksa i vraćaju se u korteks, bilo direktno preko talamusa (direktni put) ili najpre preko *nc. subthalamicus-a*, a tek zatim preko talamusa (indirektni put). U drugoj grupi neuronskih krugova signali iz korteksa odlaze u *substantia nigra-u* i u retikularnu formaciju, a potom u moždano stablo i kičmenu moždinu.



Slika 3. Direktni i indirektni put bazalnih ganglija u izvođenju motorne aktivnosti. Na direktnom putu, cerebralni kortikalni ulaz u strijatum uzrokuje aktivaciju inhibitornih neurona, što zatim uzrokuje

povećani inhibitorni izlaz u *globus pallidus medialis-u* (GPM). Postoji smanjeni inhibitorni izlaz iz GPM u ventralna prednja (VA) i ventralna lateralna (VL) jedra talamusa koja se zatim ekscitatornim putevima projektuju u premotorni korteks. Direktni put reguliše toničke aktivnosti u premotornom korteksu koji je uključen u planiranje i izvođenje pokreta. Indirektni put inhibira kretanje kada ekscitatorna projekcija iz moždane kore aktivira inhibitorne projekcione neurone u *globus pallidus lateralis-u* (GPI). Oni tada inhibiraju toničke inhibitorne izlazne neurone što smanjuje toničku inhibiciju subtalamičkog jedra (STN) i rezultira povećanim ekscitatornim izlazom na GPM. Ekscitacija GPM povećava inhibitorni izlaz iz GPM u talamus, što zatim smanjuje povratne reakcije na korteks mozga i dovodi do inhibicije motorne aktivnosti. Dopamin pospešuje delovanje direktnog puta, istovremeno potiskujući aktivnost indirektnog puta. Slika je preuzeta iz publikacije : Roshan MH, Tambo A, Pace NP. Potential Role of Caffeine in the Treatment of Parkinson's Disease. Open Neurol J. 2016 Jul 26;10:42-58. doi: 10.2174/1874205X01610010042. PMID: 27563362; PMCID: PMC4962431.

### **Direktni motorni krug**

Direktni krug polazi iz motorne kore i pruža se do *nc.caudatus-a* i *putamen-a* (Afifi i Bergman, 2005; Carpenter i sar., 1996). U pitanju su kortikostrijatni snopovi koji imaju somatotopsku organizaciju. Osim ovih direktnih snopova, postoje i indirektno veze, tj. korteks-talamus-neostrijatum, kao i kolaterale iz drugih snopova vlakana (*tr. corticopontini* i *tr.corticoolivaris-a*) (Afifi i Bergman, 2005). Kortikostrijatni aksoni dolaze do neostrijatuma pomoću *fasciculus subcallosus-a*, a preko *capsula interna-e* i *capsula externa-e*. Kortikostrijatna glutamatergička vlakna aktiviraju GABA-ergičke neurone strijatuma, tj. izazivaju smanjenje inhibitorne aktivnosti ovih neurona. Iz neostrijatuma polaze GABA-ergički aksoni za medijalni segment *globus pallidus-a* (strijatopalidalna vlakna), koji sadrži GABA-ergičke ćelije. Aksoni ovih neurona iz *globus pallidus-a* odlaze u talamus (palidotalamička vlakna), gde ulaze u *nc. ventralis anterior et lateralis* i *nc. centromedianus*. Glutamatergički aksoni iz ovih talamičkih jedara zatvaraju krug, jer se završavaju u motornom korteksu (talamokortikalna vlakna). Ekscitatorni dopaminergički nigrostrijatni snop smanjuje aktivnost inhibitornih GABA-ergičkih neurona neostrijatuma i *globus pallidus-a*, odnosno palidotalamičkih aksona. Zato se pojačava talamokortikalna aktivnost koja stimuliše i pojačava pokrete (Herdegen i Delgado-Garcia, 2004; Kandel i sar., 2000). Sada je razumljivo zašto smanjenje dopamina nigrostrijatnog snopa u Parkinsonovoj bolesti dovodi do usporavanja pokreta.

## **Indirektni motorni krug**

Indirektni krug ima iste početne komponente (glutamatergička kortikostrijatna i GABA-ergička strijatopalidalna vlakna). Međutim, iz lateralnog segmenta *globus pallidus*-a odlaze GABA-ergički aksoni u *nc. subthalamicus*, a iz ovog jedra kreću glutamatergička vlakna u medijalni i lateralni segment *globus pallidus*-a, kao i u supstanciju nigru (Herdegen i Delgado-Garcia, 2004). Ostatak kruga je identičan prethodnom (GABA-ergička palidotalamička i glutamatergička talamokortikalna vlakna). Aktivacijom indirektnog kruga vrši se još jača inhibicija talamusa, odnosno talamokortikalnih veza, te nastaje inhibicija pokreta. Direktni i indirektni krug obično deluju istovremeno, usklađujući svoju aktivnost sa motornom funkcijom. Jedna od glavnih uloga ovih sistema jeste gradacija brzine i amplitude pokreta. Pritom, direktni krug pojačava odabrani svrshodni pokret, dok indirektni krug inhibiše potencijalno ometajuće pokrete (Kandel i sar., 2000). Time se omogućuje besprekorno izvršenje odabranog pokreta.

## **Kortiko-strijato-nigralni krug.**

Njegov početni deo obuhvata glutamatergička kortikostrijatna i GABA-ergička strijatopalidalna vlakna. Aksoni iz *globus pallidus*-a odlaze u retikularni deo *substantia nigra*-e (palidonigralna GABA-ergička vlakna), odakle se aksoni projektuju u talamus (*nc. ventralis anterior*). Glutamatergička talamokortikalna vlakna završavaju ovaj krug u motornom korteksu. Od dela ovog kruga u nivou supstancije nigre odvaja se snopić koji odlazi u *colliculi superiores* mezencefalona (nigrotektalna vlakna). Ovaj okulomotorni podsistem započinje još u frontalnom očnom poiju, nastavlja se do repatog i bledog jedra, pa ulazi u supstanciju nigru (Kandel i sar., 2000). Odavde polaze spomenuta nigrotektalna vlakna, kao i snopić koji se vraća u frontalno očno polje. Ovaj podsistem je važan za započinjanje sakadnih pokreta očiju. Najzad, jedan snop iz *substantia nigra*-e odlazi u retikularnu formaciju (RF), odnosno u *nc. pedunculo-pontinus*, tj. u holinergičku grupu Ch6, koja dobija i palidalna vlakna, a predstavlja i mezencefalički lokomotorni centar (Kandel i sar., 2000; Carpenter i sar., 1996). Odavde odlaze aksoni u RF moždanog stabla, odakle nastavljaju u kičmenu moždinu pomoću *tr. reticulospinalis*-a (Kandel i sar., 2000).

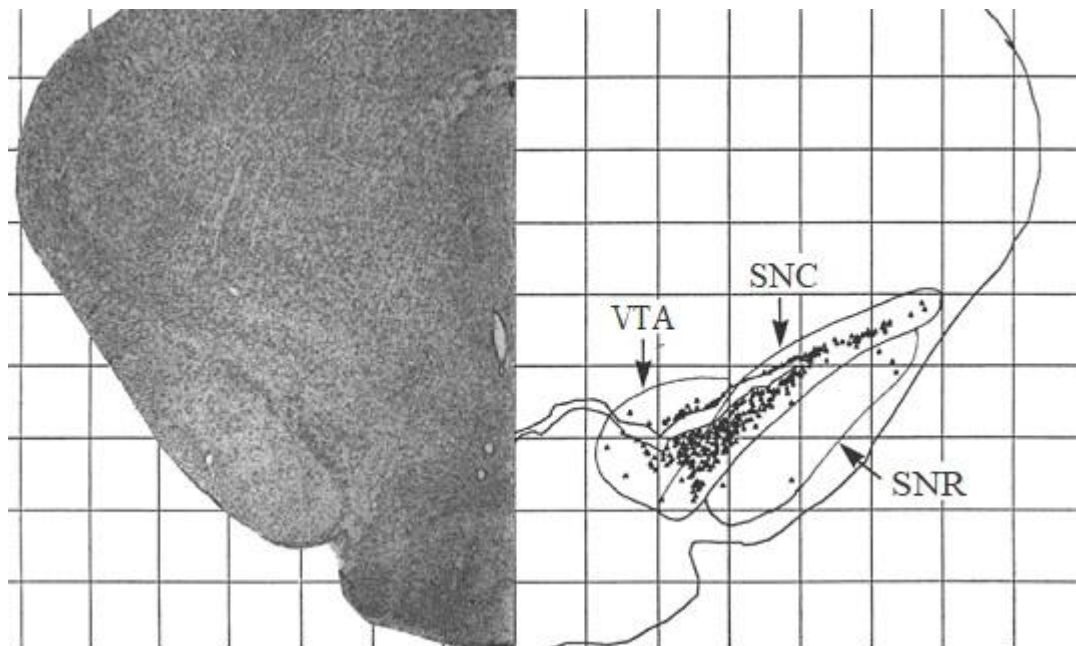
## **1.2. Dopaminergička jedra i projekcije u više centre**

Dopaminergički sistem obuhvata grupe neurona od A8 do A17, koje leže u srednjem mozgu (*mesencephalon*), subtalamusu, hipotalamusu, olfaktivnim strukturama i mrežnjači (*retina*). Najveća

koncentracija dopamina je u neuronima i aksonima grupe A9 u okviru *substantia nigra-e*. Tri prve dopaminergičke grupe (A8-A10) nalaze se u mezencefalonu (Slika 4.). Grupa A8 leži neposredno kaudalno od crvenog jedra (*nc. ruber*). Aksoni iz A8, A9 i A10 formiraju, mezostrijatni snop, čiji je glavni deo nigrostrijatni snop.

Grupa A9 predstavlja *pars compacta substantia nigra-e*. To je najveća kolekcija dopaminergičkih ćelija u mozgu koje sadrže oko 75% dopamina CNS-a (Rang i sar., 2003). Ovi neuroni imaju u citoplazmi crni pigment - neuromelanin (produkt koji nastaje u toku metabolizma dopamina). Neuroni daju snopić za *colliculus superior* mezencefalona, a zatim formiraju veliki ascendentni, nigrostrijatni snop, koji se pruža u sastavu medijalnog snopa prednjeg mozga (engl. “*the medial forebrain bundle*”). On vrši dopaminergičku inervaciju neostrijatuma (*putamen i nc.caudatus*). Zahvaljujući ovom snopu, u neostrijatumu se nalazi najveća koncentracija dopamina u mozgu. Ovaj snop ima ulogu u započinjanju motornog odgovora, ali je važan i za motivaciju, kao i za odgovarajuće biološke nagone.

Grupa A10 nalazi se u ventralnom tegmentalnom području (*area tegmentalis ventralis - VTA*) mezencefalona, između *nc.ruber-a*, *substantia nigra-e* i *ncc. raphes*. Descendentni snop iz ove grupe odlazi u *locus coeruleus* i u *nc. parabrachialis lateralis*. Mali ascendentni snop se završava u habenuli. Aksoni iz VTA formiraju dva velika ascendentna snopa, mezolimbički i mezikortikalni, koji idu u sastavu “*the medial forebrain bundle-a*”.



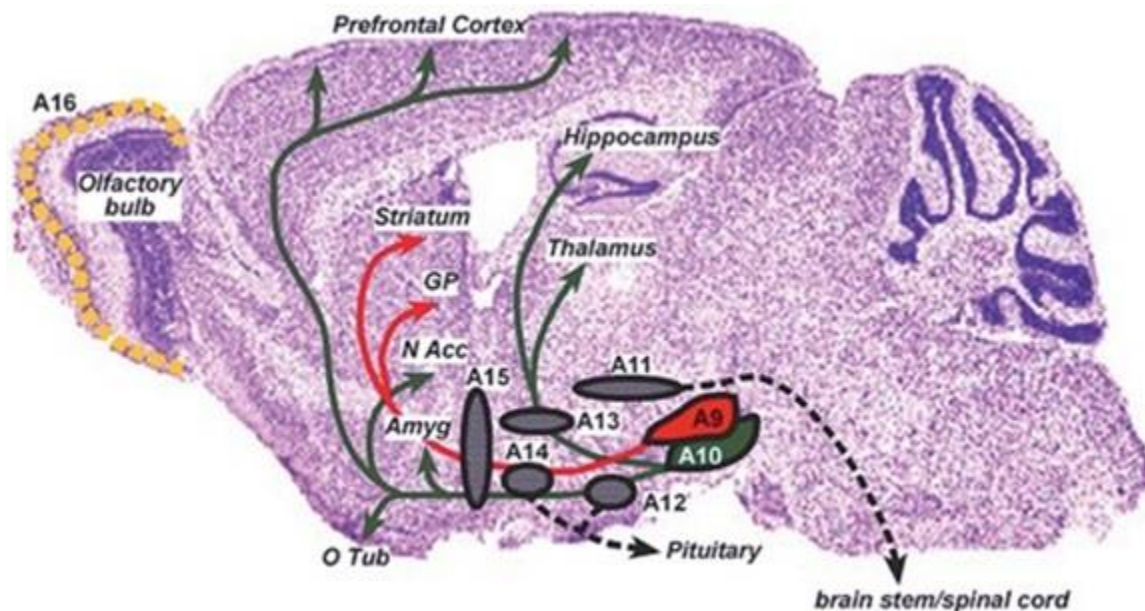
Slika 4. Računarske mape broja i raspodele dopaminergičkih neurona u rostralnom delu srednjeg mozga u odnosu na susedne delove tkiva obojene po Nisslu (leva mikrografija). Desno su

shematski prikazane granice definisanja dopaminergičkih jedara : SNc – *substantia nigra pars compacta* (A9); SNr – *substantia nigra pars reticulata* (A9); VTA – *ventralna tegmentalna area* (A10). Slika je preuzeta iz publikacije : German DC, Manaye KF. Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): three-dimensional reconstruction in the rat. J Comp Neurol. 1993 May 15;331(3):297-309. doi: 10.1002/cne.903310302. PMID: 8514911.

Mezolimbički snop završava se u limbičkim jedrima (*corpus amygdaloideum, nc. stria terminalis, nc. septalis lateralis, nc. accumbens*) i u limbičkom korteksu (rostralni deo *gyrus cinguli, area entorhinalis, hippocampus, piriformna kora*). Mezolimbički sistem učestvuje u generisanju i regulaciji emocija, pamćenja, motivacije i pažnje.

Mezokortikalni snop završava se najviše u prefrontalnom korteksu, temporalnim asocijativnim poljima i u motornoj kori (Afifi i Bergman, 2005). Mezokortikalni sistem je odgovoran za kognitivne funkcije mozga: mišljenje, rasuđivanje, rešavanje logičkih problema, planiranje, socijalno ponašanje. Promena funkcionisanja mezolimbičkog i mezokortikalnog snopa zapažena je u pojedinim psihijatrijskim oboljenjima, naročito u shizofreniji kod osoba koje koriste odgovarajuće droge.

Od ostalih dopaminergičkih kolekcija neurona (Slika 5.), grupe A11-A14 leže oko treće moždane komore, najvećim delom u hipotalamusu. Grupa A15 nalazi se u *tuberculum olfactorium-u*, grupa A16 u *bulbus olfactorius-u*, a grupa A17 u mrežnjači oka. Grupa A11 nalazi se u kaudalnom delu hipotalamusa. Grupa A12 najvećim delom obuhvata *nc. arcuatus* u ventralnom delu hipotalamusa. Grupa A13 nalazi se u kaudalnom i dorzalnom delu hipotalamusa i u *zona incerta*. Grupa A14 prostire se kroz rostralno periventrikularno područje hipotalamusa. Neuroni u A15 i A16 učestvuju u olfaktivnoj funkciji. Grupa A17 neurona retine važna je za registrovanje boja. Grupe A11-A13 šalju dopaminergičke aksone, obično u sastavu *fasciculus longitudinalis dorsalis-a* hipotalamusa, u moždano stablo i kičmenu moždinu, gde oni regulišu aktivnost preganglijskih simpatičkih neurona, naročito u *nc. intermediolateralis-u*. Aksoni iz grupe A14 završavaju se u talamusu. Aksoni iz grupa A12-A14 formiraju tuberoinfundibularni snop u ventralnom delu hipotalamusa. Manji broj ovih aksona završava se u zadnjem delu neurohipofize, a veći broj se završava u *eminentia mediana* odakle, preko portalnog krvotoka, regulišu sekreciju prolaktina iz adenohipofize.



Slika 5. Položaji i aksonske projekcije različitih dopaminergičkih grupa ćelija u sagitalnom preseku mozga pacova. Mezencefaličke grupe A9 (SNc, crvena) i A10 (VTA, zelena) projektuju se na dorzolateralni striatum (*nc.caudatus* i *putamen*) i *globus pallidus* (GP), ili na ventromedijalni striatum (*nucleus accumbens* - NAcc), *corpus amygdaloideum* (Amyg), *tuberculum olfactorium* (O Tub), odnosno prefrontalni korteks (PFC). Grupa A10 (VTA) uspostavlja dodatne veze sa regijama talamusa i hipokampusa. Približno mesto grupa u međumozgu (*diencephalon*) A11 – A15 hipotalamusa / ventralnog talamusa (siva tačkasta polja) i njihove silazne projekcije u moždano stablo / kičmenu moždinu označene su isprekidanim linijama jer se ne kolokalizuju u istom odeljku. Inervacija prednjeg dela hipofize pomoću tuberohipofizialnog / tuberoinfundibularnog sistema označena je isprekidanom linijom i strelicom. Telencefaličku grupu A16 čine periglomerularni interneuroni unutar olfaktornog bulbusa (žuta isprekidana linija). Na slici su izostavljene A8 (retrobrubralno polje) i A17 (retina amakrini interneuroni) dopaminergičke grupe, kao i lokalne hipotalamičke projekcije diencefalnih grupa. Slika je preuzeta iz publikacije : Prakash N, Wurst W. Development of dopaminergic neurons in the mammalian brain. *Cell Mol Life Sci.* 2006 Jan;63(2):187-206. doi: 10.1007/s00018-005-5387-6. PMID: 16389456.

### 1.3. Dopamin kao neurotransmiter

Dopaminergički sistem sadrži dopamin (DA) kao glavni neurotransmiter. DA se sintetiše iz aminokiseline tirozina preko DOPA-e (Shepherd, 1994) i može da kolokalizuje sa nekim neuropeptidima, npr. sa holecistokininom (CCK). Svi dopaminergički neuroni sadrže i granule

neuromelanina, crnog pigmenta koji je polimer sastavljen od produkata metabolizma dopamina ili L-DOPA-e (Larsen i Sulzer, 2002). Postoji pet grupa metabotropnih dopaminergičkih receptora D1-D5 (Tabela 1.), koji su svrstani u D1 porodicu (D1 i D5) i D2 porodicu (D2, D3 i D4) (Rang i sar., 2003). Svi receptori su postsinaptički, ali neki od njih mogu da budu i presinaptički. D1 receptora ima najviše u neostriyatumu, bledom jedru (*globus pallidus*), limbičkom sistemu (*hippocampus*, *nc. accumbens* i *corpus amygdaloideum*), hipotalamusu i talamusu. Malobrojni receptori D5 smešteni su u frontalnoj kori, hipokampusu, hipotalamusu, *nc.mammillarisu lateralis-u*, *locus coeruleus-u* i u *nc.raphe dorsalis-u*. Obe vrste spomenutih receptora (D1 i D5) stimulativnog su karaktera. D2 receptori najviše su prisutni u frontalnom korteksu, limbičkom sistemu (*nc. accumbens-u*, *corpus amygdaloideum-u* i *regio septalis*), adenohipofizi, a manje u striyatumu. D3 receptora ima u neokorteksu, limbičkom sistemu (*hipocampus-u*, *nc. accumbens-u*), talamusu, malom mozgu (*cerebellum*) i crnoj masi (*substantia nigra*), a gotovo ih nema u striyatumu. D4 receptori nalaze se u neokorteksu, limbičkom sistemu i u adenohipofizi, dok ih je vrlo malo u striyatumu. Receptori D2, D3 i D4 su inhibitornog tipa.

Tabela 1. Tabelarni prikaz rasporeda dopaminskih receptora u mozgu.

Vrsta receptora	Anatomska lokalizacija
D1	<i>Neostriatum</i> , <i>globus pallidus</i> , hipotalamus, talamus, limbički sistem
D2	Frontalni korteks, limbički sistem, adenohipofiza, <i>corpus striatum</i>
D3	Neokorteks, limbički sistem, talamus, <i>cerebellum</i> , <i>substantia nigra</i>
D4	Neokorteks, limbički sistem, adenohipofiza
D5	Frontalni korteks, <i>hippocampus</i> , hipotalamus, <i>nc.mammilaris lateralis</i> , <i>locus coeruleus</i> , <i>nc.raphe dorsalis</i>

#### 1.4. Dopaminska teorija nastanka shizofrenije

„Dopaminska hipoteza“ o shizofreniji proizašla je iz slučajnog otkrića Jean Delai-a i Pierre-a Deniker-a 1952. godine o antipsihotičkim efektima hlorpromazina, prvi put razvijenog kao predhirurški sedativ (Delai i sar., 1952). Njihovi nalazi u psihijatrijskoj populaciji ubrzo su reprodukovani u najmanje 10 kliničkih studija sprovedenih u narednim godinama (Covden i sar., 1955). Carlsson i Lindkvist su kasnije otkrili da hlorpromazin i novorazvijeni antipsihotični haloperidol povećavaju koncentraciju



dopaminskih metabolita u mozgu miša, ne menjajući koncentraciju dopamina, što je dovelo do njihovog predloga da blokada neurotransmisije dopamina ublažava psihotične simptome (Carlsson i Lindkvist, 1963). Ovo je bila osnova za formulisanje hipoteze da prekomerni prenos dopamina predstavlja glavno obeležje shizofrenije (Van Rossum, 1966). Primena visokih doza amfetamina može kod normalnih osoba proizvesti akutnu psihozu koja se ne razlikuje od paranoičnog podtipa shizofrenije i koja se brzo poboljšava antipsihotičkim lečenjem (Angrist i sar., 1974). S obzirom na to da je amfetamin snažan oslobodilac kateholamina u mozgu, ovo kliničko posmatranje pružilo je dodatnu podršku hipotezi o dopaminu, koja je ubrzo postala najpopularnija teorija za integraciju različitih bioloških i kliničkih nalaza u istraživanju shizofrenije (Meltzer i Stahl, 1976). Hipoteza o dopaminu u svojoj originalnoj formulaciji bila je implicitno ograničena na dopaminergički prenos u bazalnim ganglijima, ali sadašnja konceptualizacija povezuje pozitivne simptome shizofrenije sa prekomernim prenosom dopamina u subkortikalnim moždanim strukturama, posebno u strijatumu, dok negativno povezuje simptome i kognitivne deficite sa dopaminergičkim oštećenjem u prefrontalnom korteksu (Davis i sar., 1991; Weinberger, 1987). Međutim, potkrepljivanje dopaminergičkih abnormalnosti kod shizofrenije u početku je bilo otežano oskudicom neurohemijskih podataka. Postmortalne analize nisu otkrile značajne razlike u cerebralnim koncentracijama dopamina ili njegovih metabolita između kontrola i pacijenata koji su umirali od shizofrenije (Winblad i sar., 1979), iako su drugi pronašli povećani nivo dopamina u delovima striatuma (Crov i sar., 1979). Iako su neke studije homogenog vezivanja sugerisale izmenjenu ekspresiju dopaminskih receptora ili transportera, anatomski definisana autoradiografska ispitivanja nisu otkrila takve promene u mozgu kod pacijenata (Knable i sar., 1994). Poznata upozorenja i zabune u takvim studijama uključuju istoriju lečenja i značajna kašnjenja nakon smrti, što je rezultiralo prekomernom varijabilnošću krajnjih neurohemijskih rezultata. In vivo studije u cerebrospinalnoj tečnosti mogu pružiti pouzdaniji marker centralnog prometa dopamina, uz upozorenje da glavni dopaminski metabolit homovanilna kiselina (HVA) u lumbalnoj cerebrospinalnoj tečnosti potiče iz moždane kore i bazalnih ganglija. Bez obzira na to, podudarnost nekoliko takvih studija pokazala je pozitivnu korelaciju između nivoa HVA i težine pozitivnih simptoma kod pacijenata obolelih od shizofrenije u odnosu na zdrave kontrole (Maas i sar., 1997). Neuroendokrini izazovi predstavljaju još jedan kanal za sondiranje dopamina u mozgu kod obolelih od shizofrenije. U jednoj takvoj studiji, odgovor prolaktina na agonist dopamina apomorfin bio je oslabljen u grupi nelečenih pacijenata sa shizofrenijom (Duval i sar., 2003). Drugi autori primećuju da su nalazi abnormalnosti u HPA osi izmenjeni nespecifičnim aspektima psihosocijalnog stresa i uznemirenosti (Belvederi Murri i sar.,

2012). Generalno, ovakvi nalazi naglašavaju potrebu za direktnijim metodama procene dopaminergičkog statusa u mozgu pacijenata obolelih od shizofrenije.

## 2. Noradrenergički sistem

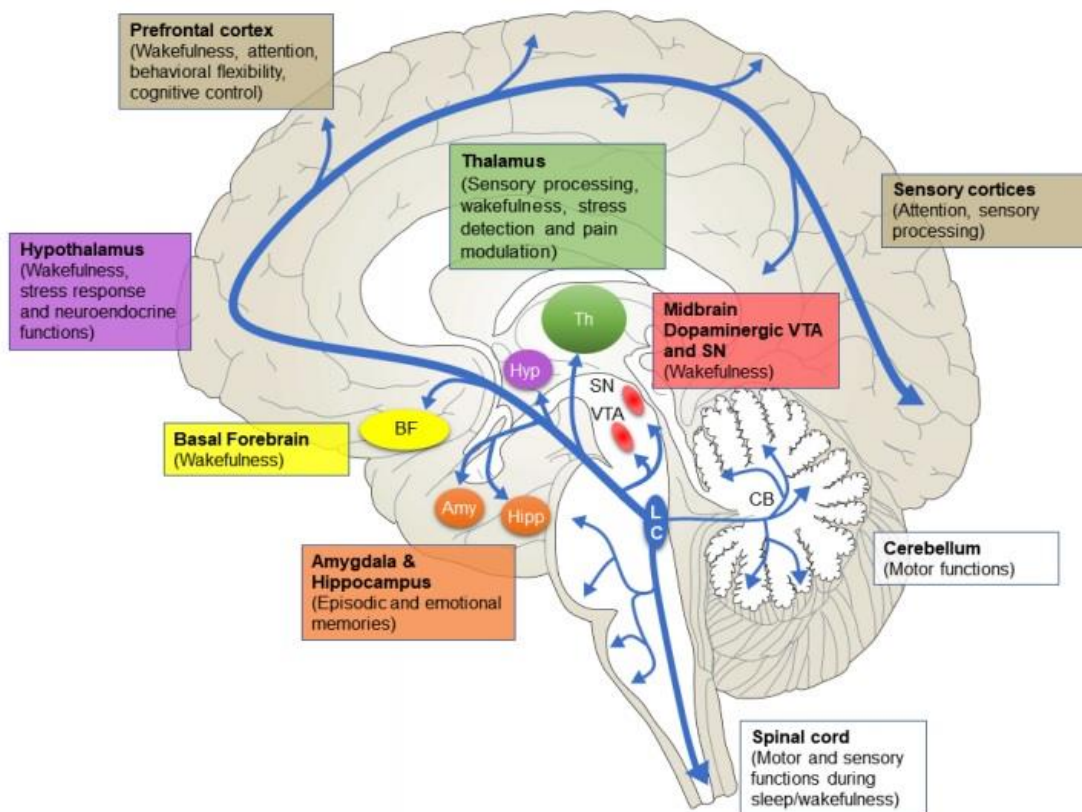
### 2.1. Noradrenalin kao neurotransmiter

Noradrenergički sistem obuhvata neurone i aksone koji sadrže noradrenalin (NA), tj. norepinefrin (NE). Sinteza NA započinje aminokiselinom tirozinom, kojeg neuroni dobijaju iz krvi (Shepherd, 1994). Sinteza se vrši ili u telu neurona ili u aksonskom terminalu. Najpre deluje enzim tirozin hidroksilaza, te nastaje DOPA, iz koje pod dejstvom DOPA dekarboksilaze nastaje dopamin (Rang i sar. 2003). Na njega deluje dopamin- $\beta$ -dekarboksilaza, te se stvara noradrenalin. Najzad, pod dejstvom enzima feniletanolamin N - metiltransferaze (PNMT-a) noradrenalin prelazi u adrenalin. Inače, NA se metaboliše do vanililmandelične kiseline (Gascon i sar. 2007). Noradrenergički receptori obuhvataju, najpre,  $\alpha$ -receptore ( $\alpha_1$  i  $\alpha_2$ ), koji se dele na po četiri podtipa ( $\alpha_{1A}$ – $\alpha_{1D}$  i  $\alpha_{2A}$ – $\alpha_{2B}$ ). Njihovi agonisti jesu adrenalin, noradrenalin i izoproterenol, a antagonisti ergotamini (Rang i sar. 2003, Trkulja, 2008). Metabotropni receptori  $\alpha_1$ , koji su postsinaptičkog tipa, nalaze se u raznim delovima mozga, uključujući i frontalni korteks i amigdalnu, pa i na neuronima drugih neurotransmiterskih sistema (dopaminergičkog, serotonergičkog itd.), gde deluju stimulatивно. Imaju važnu ulogu u regulisanju stanja budnosti, kao i autonomnih funkcija, naročito krvnog pritiska. S druge strane, metabotropni  $\alpha_2$  receptori, koji mogu biti presinaptički i postsinaptički, takođe su difuzno raspoređeni u CNS-u. Imaju inhibitorni efekat na neurone nekih drugih neurotransmiterskih sistema. Postoje i  $\beta$ -receptori ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  i  $\beta_3$ ), koji imaju iste agoniste kao i  $\alpha$  receptori, dok im je antagonist propranolol (Rang i sar. 2003). Neki od ovih receptora su presinaptički (npr.  $\beta_2$ ), dok su drugi postsinaptički. Vezivanjem NA za  $\beta$ -receptore pokreće se mehanizam sekundarnog mesindžera (G-protein i cAMP), jer su ovi receptori metabotropnog tipa (Shepherd, 1994). Difuzno su distribuirani u neuronima CNS-a, a  $\beta_2$  receptori nalaze se i u glija ćelijama. I  $\beta$  i  $\alpha$  receptori nalaze se i u perifernom nervnom sistemu, kao i u perifernim tkivima i organima, gde imaju različite uloge. Tako,  $\alpha_1$ -receptori vrše vazokonstrikciju, relaksaciju glatkih ćelija gastrointestinalnog trakta, sekreciju pljuvačke i glikogenolizu. Zatim,  $\alpha_2$ -receptori vrše vazokonstrikciju, ali i inhibiciju oslobađanja raznih neurotransmitera (npr. noradrenalina i acetilholina iz autonomnih nerava), inhibiciju oslobađanja insulina i agregaciju trombocita. Iz druge grupe,  $\beta_1$ -receptori povećavaju snagu i frekvencu rada srca,  $\beta_2$  receptori izazivaju

vazodilataciju, bronhodilataciju, relaksaciju glatkih mišićnih ćelija organa i glikogenolizu, dok  $\beta_3$ -receptori vrše lipolizu.

## 2.2. Noradrenergička jedra

Noradrenergički sistem obuhvata sedam neuronskih grupa, obeleženih od A1 do A7. Grupa A1 leži u moždanom stablu blizu *nc. ambiguus*-a, a A2 grupa se nalazi u kaudalnom delu *nc. tractus solitari*. Obe grupe projektuju se u hipotalamus (*nc. supraopticus*), gde učestvuju u regulaciji endokrine funkcije i kardiovaskularnog sistema. Grupa A3 obuhvata deo *nc. reticularis lateralis*-a produžene moždine. Ostale grupe noradrenergičkih neurona nalaze se u ponsu. Grupa A4 pruža se uz *pedunculus cerebellaris superior*. Grupa A5 leži blizu rostralnog dela *nc. facialis*-a. Grupa A6 su neuroni *locus coeruleus*-a, a grupa A7 nalazi se u *locus subcoeruleus*-u. Grupe A5 i A7 daju descendentni snop za kičmenu moždinu koji modulira autonomne reflekse i nociceptivnu percepciju. *Locus coeruleus* (A6), mada sadrži samo oko 10 000 neurona, ima najveću koncentraciju noradrenalina u mozgu (Kandel i sar. 2000). Aksoni ovih neurona daju milione ogranaka za CNS (Shepherd, 1994). Ovo jedro šalje descendentni snop u moždano stablo (za odgovarajuća jedra kranijalnih živaca, za retikularnu formaciju) i u kičmenu moždinu (gde inerviše razne neurone, uključujući i preganglijske parasimpatičke ćelije i “nociceptivne” neurone), kao i dorzalni snop za mali mozak. Ascendentna grupa vlakana iz *locus coeruleus*-a naziva se dorzalni noradrenergički snop. On daje vlakna za delove mezencefalona (*colliculi superiores et inferiores, regio pretectalis*), za jedra talamusa i hipotalamusa. Najveći deo snopa pruža se u sastavu “*the medial forebrain bundle*” koji prolazi kroz lateralni deo hipotalamusa. Ovi aksoni završavaju se u subkortikalnim limbičkim jedrima (*corpus amygdaloideum, regio septalis, “the basal forebrain”*), limbičkom korteksu (*gyrus cinguli, formatio hippocampi*) i u najvećem delu neokorteksa, gde je nejednako raspoređen. *Locus coeruleus* je važan za održavanje pažnje, odnosno za reagovanje na neočekivane signale iz spoljne sredine koji, između ostalog, mogu uzrokovati pojavu straha (Jedema i sar. 1999). Zapažena je njegova aktivnost i pri naglim promenama ponašanja, kao i u stanjima stresa. Njega intenzivno aktiviraju strah, hipoksija, hipotenzija i hiperbarija (Nelson i sar. 2006). On učestvuje i u održavanju svesti i budnog stanja, zbog čega je njegova aktivnost maksimalna u ovim stanjima, a gotovo da prestaje u toku spavanja. Ascendentni aksoni iz ventrolateralnih noradrenergičkih grupa formiraju lateralni tegmentalni noradrenergički snop, koji se završava u hipotalamusu (*nc. supraopticus, eminentia mediana*) i u limbičkim strukturama (*corpus amygdaloideum, hippocampus*).



Slika 6. Eferentni putevi i funkcije *locus coeruleus*-a (LC). LC projektuje svoje veze kroz mozak preko tri glavna puta sa širokom kolateralizacijom. Uzlazni put čine ventralno tegmentalno područje (VTA) i substancija nigra (SN), bademasto telo (Amy), hipokampus (Hipp), hipotalamus (Hip), talamus (Th), bazalni prednji mozak (BF), prefrontalni korteks i senzorni korteksi. Mali deo vlakana odlazi do kičmene moždine i uključen je u motorne funkcije. Disfunkcija na ovim putevima može dovesti do simptoma Parkinsonove bolesti. Slika je preuzeta iz publikacije : Bari BA, Chokshi V, Schmidt K. Locus coeruleus-norepinephrine: basic functions and insights into Parkinson's disease. *Neural Regen Res.* 2020 Jun;15(6):1006-1013. doi: 10.4103/1673-5374.270297.

### 2.3. Uloga noradrenalina u nervnom sistemu

Sa više od 1.2 miliona neurona *locus coeruleus*-a (Audet i sar.,1988) pokreće se oslobađanje noradrenalina u širokom području korteksa (Levit, Moore, 1978). Aktivacija LC-a se može posmatrati kao globalni regulator funkcije mozga, pri čemu verovatno postoji određena selektivnost u oslobađanju noradrenalina da bi se omogućilo specifičnije oblikovanje odgovora u mozgu. Ovakva specifičnost je povezana sa dva primarna načina oslobađanja noradrenalina; toničnim i faznim (rafalnim) ispaljivanjem iz LC. Ovi modusi su povezani sa toničnom kontrolom budnosti (Berridge i

sar., 2003), kao i sa faznim oslobađanjem noradrenalina koje reguliše ponašanje (Berridge i sar., 2003; Herve-Minvielle i sar., 1995; Hirata i sar., 1994; Vankov i sar., 1995). Iako se fazno oslobađanje može smatrati mehanizmom brze preorijentacije i kontrole tokom bihevioralno relevantnih trenutaka, noradrenalin je u stanju da optimizuje odgovore na benigne i patološke stimuluse kontrolišući stanje mozga. Toničnim oslobađanjem noradrenalin deluje na san, pažnju, stres, upale i mnoge druge procese. Ova aktivnost pomaže da se integrišu unutrašnji fiziološki zahtevi. Kao takav, noradrenalin ima potencijal da izmeni kortikalne odgovore kako na spore promene u fiziološkoj funkciji, tako i na kritične trenutke ponašanja odgovarajućih stimulusa. Da bi se ostvario ovaj efekat, noradrenergički sistem se oslanja na diferencijalnu ekspresiju nekoliko tipova receptora i u neuronima i u ćelijama glije u celom CNS-u. Ova složenost se proteže čak i unutar prilično sličnih tipova ćelija, sa ekspresijom u zavisnosti od moždanog sloja, uzorka oslobađanja neurotransmitera iz neurona i drugih naizgled manjih ćelijskih razlika. Kroz ovu složenost noradrenalin može istovremeno i različito da izazove velike promene u neuronskoj povezanosti, ishodima ponašanja, akutnim odgovorima i drugim promenama širom nervnog sistema. Efekti noradrenalina realizuju se kroz gliju, kao i kroz neurone. Kroz ovo ciljanje, noradrenalin je u stanju da promeni bezbroj procesa, uključujući metaboličku aktivnost, puferovanje glutamata i kalijuma, kao i mnoštvo drugih funkcija koje se menjaju u velikim populacijama ćelija. Postoje studije koje pokazuju da povećanje nivoa noradrenalina smanjuje upalne procese i pruža neuroprotekciju. Stimulacijom adrenergičkih receptora, noradrenalin deluje na makrofage i imunski odgovor.

### **3. Animalni modeli**

#### **3.1. Definicija animalnih modela**

Pod modelom bolesti podrazumevamo više nego korisno sredstvo za ispitivanje abnormalne neurobiologije i ponašanja. Modeli bolesti treba da budu izvedeni iz faktora rizika ili uzročnika ljudskih bolesti ili u suprotnom da pokazuju značajan stepen neuronske ili bihevioralne patologije koja ubedljivo odgovara ljudskoj bolesti. Životinjski modeli neuropsihijatrijskih poremećaja nastali su na različite načine, uključujući selektivni uzgoj, genetski inženjering, lezije mozga i manipulacije okolinom (Gradinaru i sar, 2010). S obzirom na ove raznolike pristupe i izazove, korisno bi bilo da naučna zajednica podeli kriterijume za procenu da li je određen model bolesti „dovoljno dobar“ da opravda dalja ulaganja. Dugogodišnji okvir postavlja tri vrste validatora: konstrukciju, lice i prediktivnu validnost. Ovaj okvir bi

imao koristi od većeg dogovora o tome kako strogo suditi o validatorima. Konstruktiva (ili etiološka) validnost (*construct validity*) odnosi se na relevantnost bolesti za metode pomoću kojih se konstruiše model. U idealnoj situaciji, istraživači bi postigli konstruktivnu validnost rekreirajući na životinji etiološke procese koji uzrokuju bolest kod ljudi i na taj način preslikavaju neuronske i bihevioralne karakteristike bolesti (Chadman i sar., 2009). Direktna način da se to postigne bilo implantiranjem poznate genetske mutacije koja uzrokuje bolest u životinju ili, sa nešto manje sigurnosti, ubacivanje visoko - ali ne u potpunosti - penetrantne genetske varijante koja značajno povećava ranjivost za ljudsku bolest. Međutim, to trenutno nije moguće za većinu mentalnih bolesti, jer takvi geni koji izazivaju bolesti nisu sa sigurnošću ustanovljeni, a većina poremećaja pokazuje izuzetno složenu genetsku arhitekturu (Aguzzi i sar., 2008). Štaviše, većina prijavljenih genetskih asocijacija predstavljaju uobičajene varijante malog efekta, što čini njihovu korisnost za životinjske modele vrlo upitnom. Pored genetske manipulacije, modeli bolesti mogu se generisati promenom ekspresije ili funkcije određenih proteina, biohemijskih puteva ili neuronskih krugova za koje se pretpostavlja da igraju ulogu u patogenezi bolesti. Izazov za tumačenje takvih pristupa, u odsustvu relevantnih ljudskih genetskih dokaza, je da li predstavljaju legitimne modele bolesti, a ne zanimljive fenokopije. Postoji važna razlika između tvrdnje da poremećaj nekog biohemijskog puta reguliše ponašanje, nasuprot tvrdnji da on modelira određeni ljudski poremećaj sa korisnim implikacijama na patofiziologiju ili razvoj lečenja. Validnost konstrukcije takođe se može postići izlaganjem životinje dobro validiranom faktoru rizika u životnoj sredini ili poznatom uzročniku bolesti. Primer bi bio patogeni prion koji indukuje Creutzfeldt-Jakobovu bolest kod glodara (Aguzzi i sar., 2008). Međutim, izvan ovog direktnog slučaja, postoji mnogo prostora za neslaganje u odabiru pragova za konstruktivnu valjanost prediktora validnosti : gotovo svi ekološki doprinosi mentalnim bolestima, poput stresa ili nedaća u detinjstvu (Green i sar, 2010), povezani su sa višestrukim poremećajima i najčešće normalnim ishodima.

Validnost lica (*face validity*) znači da model rekapitulira važne anatomske, biohemijske, neuropatološke ili bihevioralne karakteristike ljudske bolesti. Kao što je ranije rečeno, malo je neurobioloških abnormalnosti, za koje se sa sigurnošću zna da su obeležja ili biomarkeri uobičajenih mentalnih bolesti. Shodno tome, karakteristike ponašanja koje podsećaju na ljudski poremećaj i dalje su potrebne da bi se postigla validnost lica. Nažalost, nije verovatno da bi bilo koji životinjski model neuropsihijatrijskog poremećaja rekapitulirao sve osobine ponašanja uočene kod ljudi ili čak da će pojedinačna ponašanja precizno modelirati ljudsku situaciju. Štaviše, dijagnoza datog poremećaja može biti veoma promenljiva i netačna. Stoga će se istraživanja o validnosti lica često osporavati, stavljajući

autorima odgovornost da iznesu eksplicitne argumente za i protiv validnosti lica u predloženom životinjskom modelu.

Prediktivna (ili farmakološka) validnost (*predictive validity*) označava da model reaguje na tretmane na način koji predviđa efekte tih tretmana na ljude. Za neuropsihijatrijske poremećaje, prediktivna validnost je vrlo komplikovan koncept. Ciljevi glavnih klasa lekova koji leče neuropsihijatrijske poremećaje pronađeni su *post hoc* proučavanjem mehanizma delovanja slučajno otkrivenih lekova (Nestler i sar, 2009). Da bi se otkrili novi lekovi, razvijeno je nekoliko bihejvioralnih mreža koji su koristili životinjski nervni sistem kao crnu kutiju, sa ponašanjem kao očitavanjem, za otkrivanje lekova koji deluju slično postojećim referentnim jedinjenjima. Ove mreže nisu razvijene kao mehanički modeli delovanja droge, niti je pokazano da odražavaju ni patofiziološke procese ljudskih bolesti ni terapijski mehanizam delovanja referentnih jedinjenja. Ove mreže možda neće otkriti potencijalnu efikasnost jedinjenja koja su u interakciji sa različitim molekularnim ciljevima. Čest nedostatak literature je upotreba takvih mreža kao da su zasnovane na potvrđenim patofiziološkim modelima (Nestler i sar, 2010).

Razvoj animalnih modela za proučavanje shizofrenije u prošlosti je bio izuzetno težak iz dva primarna razloga. Pre svega, skoro svi simptomi shizofrenije su kognitivne prirode, te je razvoj istih na animalnim modelima bio skoro nemoguć. Iako je razvijeno nekoliko simptoma na animalnim modelima, poput socijalnog povlačenja (Ellenbroek i sar. 2005), treba uzeti u obzir činjenicu da nijedan od simptoma nije bio specifičan za shizofreniju. Brojni autori (Ellenbroek i Cools 1990; 1995) su diskutovali o psihološkim i psihofiziološkim merama koje se mogu koristiti za modeliranje aspekata shizofrenije, pre svega predimpulsne inhibicije. Pacijenti sa shizofrenim poremećajima imaju smanjenje inhibicije predimpulsa i latentne inhibicije. Treba naglasiti da poremećaji u ovim paradigmama nisu specifični za shizofreniju.

Drugi glavni problem u razvoju animalnih modela bio je nedostatak znanja o neurobiološkoj osnovi shizofrenije. Shodno tome, iako smo u mogućnosti da merimo, na primer, inhibiciju predimpulsa kod ljudi i životinja identičnim metodama, nepoznato je bilo kako pravilno izazvati stanje nalik shizofreniji („*schizophrenia like condition*“) kod pacova (Ellenbroek i sar., 1995; 2005). U prošlosti se takvo stanje izazivalo ubrizgavanjem specifičnih lekova poput amfetamina i fenciklidina, koji mogu izazvati psihoze kod ljudi i pogoršati simptome shizofrenije (Ban i sar., 1961; Connell i sar., 1958). Nedavna otkrića, da poremećaji u normalnom razvoju mozga mogu izazvati shizofreniju, navela su istraživače da traže razvojno srodnije animalne modele za shizofreniju. Do sada je predloženo nekoliko animalnih modela za istraživanje razvojnih aspekata shizofrenije. To su :

1. neonatalne hipokampalne lezije;
2. dugotrajna izolacija;
3. latentna inhibicija;
4. socijalna interakcija;
5. fenciklidinski model.

### **3.2. Maternalna deprivacija kao animalni model**

Jedan od najnovijih animalnih modela u modernom dobu neurorazvoja hipoteza o shizofreniji je maternalna deprivacija. Maternalna deprivacija (MD) predstavlja jedan od veoma rasprostranjenih modela stresa. Ovaj model podrazumeva rano razdvajanje mladunaca od majke na 24 časa tokom prve dve nedelje postnatalnog života. Termin maternalna deprivacija je fraza utemeljena davno u radu psihijatarata i psihoanalitičara. John Bowlby je sredinom prošlog veka među prvima pisao o efektima odvajanja novorođenčadi i male dece od majke i kako efekat gubitka majke utiče na razvoj deteta. On je prikupio empirijske dokaze (posle Drugog svetskog rata) koji su postojali u to vreme širom Evrope i SAD iz čega je zaključio da odojče i malo dete mora imati topao, intiman i kontinuiran odnos sa majkom kako ne bi došlo do značajnih i nepovratnih mentalnih posledica za šta je tada postojalo kontraverzno mišljenje. Ova monografija je objavljena na 14 različitih jezika i prodana u više od 400 000 primeraka samo u engleskoj verziji (Bowlby, 1951).

Iako životinjski modeli ne mogu da ponove ljudsku psihopatologiju u svakom detalju, oni treba da budu pravilno zamišljeni kao eksperimentalni sistem u kojem se specifična pitanja mogu istražiti na načine koje je nemoguće učiniti kod ljudi. U opštem razmatranju animalnih modela, moraju se utvrditi protokoli za model koji je dizajniran da simulira specifične simptome, da testira određenu etiološku teoriju, da studiraju temeljna ponašanja i neurobiološke mehanizme i onih čija je glavna uloga da omogući klinička istraživanja lekova. Pošto se maternalna deprivacija smatra jednim od etioloških činioca shizofrenije, životinjski modeli nude mogućnost analize glavnih efekata i interakcija na kontrolisan način.

U pokušaju da se razreši misterija shizofrenije, očekuje se da će animalni modeli omogućiti davanje odgovora na pitanja „kada“ i „gde“ se odigravaju neuropatološki procesi u mozgu koji se nalaze u osnovi shizofrenije i na koji način zahvataju kognitivne procese. Otuda je za očekivati da će budući animalni modeli shizofrenije biti „konstruisani“ posredstvom kompleksne interakcije genski kontrolisanih neurotransmitera što će predstavljati značajan pomak ka razumevanju i tretmanu shizofrenije. MD kao animalni model stresa doprinosi razumevanju neuropsihijatrijskih poremećaja i



obezbeđuje obimne dokaze za „neurorazvojnu hipotezu“ shizofrenije (Waddington i sar., 1987). Obrazloženje ovog modela govori o tome da rano odvajanje majke od legla snažno povećava osetljivost mladunaca na agoniste dopamina (poput amfetamina (Zimmerberg i sar., 1992) i smanjuje osetljivost na antagonist dopamina (Gallegos i sar., 1990). Pretpostavka je da rana traumatska iskustva predstavljaju uzrok dugotrajnih promena u nervnom sistemu koje su sastavni deo etiologije brojnih psihijatrijskih poremećaja u koje ubrajamo i shizofreniju (Llorente i sar., 2012). Ellenbroek i Cools su još 2002. godine definitivno pokazali da odvajanje majke od mladunaca u periodu od 24h izaziva kod mladunaca fenotipove nalik shizofreniji. Kod životinja, stres u ranom životnom dobu, izazvan maternalnom deprivacijom tokom kritičnog perioda razvoja, poznat je kao „*stress hyporesponsive period (SHRP)*“, odnosno period osetljivosti na stres (Chocyk i sar., 2011). SHRP za pacove se javlja između 4-og i 14-og postnatalnog dana. Ponavljani kratkotrajni periodi MD dovode do povećanja genske ekspresije receptora Drd1 i Drd2 u mnogim regionima mozga kod adultnih pacova (Ploj i sar., 2003; Brenhouse i sar., 2013; Li i sar., 2013). Međutim, relativno malo se zna o posledicama stresa u ranoj životnoj dobi na dopaminergička jedra u periodu adolescencije i odrasle dobi. Prethodne studije su pokazale važnu ulogu kortikosteroida, pre svega deksametazona, čija primena u prenatalnom i ranom postnatalnom periodu oponaša efekte stresa i dovodi od izmena u citoarhitekturi kao i broju dopaminergičkih neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei i substanciji nigri (McArthur i sar., 2005). Pored toga mikroskopske morfometrijske studije su pokazale da rani postnatalni stres izaziva i promene u gustini neurona limbičkog sistema, temporalnog i frontalnog korteksa (Arnold i Trojanowski, 1996) kao i u *nc.accumbens-u* i bademastom telu (Aleksić i sar, 2016) i neokorteksu i hipokampusu (Aksić i sar, 2013).

**CILJEVI**

S obzirom na prethodno iznete činjenice postavljani su sledeći ciljevi ove doktorske teze:

1. Ispitati uticaj MD na telesnu težinu i koncentraciju kortikosterona u krvi u periodu adolescencije i periodu zrelog doba.
2. Ispitati uticaj MD na promene u volumenu SNpc, SNpr, VTA i LC u stereotaksičkim koordinatama: a) Anteriorno/Posteriorna (A/P) : 4.6 – 5.1 mm; b) 5.2 – 5.7 mm; c) 5.8 – 6.3 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma u periodu adolescencije i zrelog doba
3. Ispitati uticaj maternalne deprivacije na promene u gustini i broju dopaminergičkih neurona u SNpc, SNpr, VTA i LC u stereotaksičkim koordinatama : a) Anteriorno/Posteriorna (A/P) : 4.6 – 5.1 mm; b) 5.2 – 5.7 mm; c) 5.8 – 6.3 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma u periodu adolescencije i periodu zrelog doba.

# **MATERIJAL I METODE**

Doktorska disertacija je urađena na Institutu za anatomiju “Niko Miljanić” medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Disertacija je realizovana u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja republike Srbije čiji je broj III41020 pod rukovodstvom prof.dr Branislava Filipovića.

### **Eksperimentalne životinje**

U eksperimentima su korišćeni pacovi muškog pola soja Wistar dobijeni sa Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

### **Tretiranje životinja**

Mušjak i četiri ženke stari 3 meseca čuvani su u standardnom kavezu od pleksiglasa sa piljevinom i 12-časovnim ciklusom svetlo/mrak u uslovima kontrolisane temperature i vlažnosti vazduha. Hrana i voda su bili dostupni ad libitum. Nakon dve nedelje mužjaci su uklonjeni iz kaveza, a ženke kontrolisane radi porođaja dva puta dnevno. Dan porođaja označen je kao nulti postnatalni dan (PN 0). Prema prethodno ustanovljenom protokolu, devetog postnatalnog dana (PN 9) legla su podvrgnuta maternalnoj deprivaciji. Iz legla, koje je označeno kao eksperimentalna grupa, majka je uklonjena iz kaveza na period od 24 sata, nakon čega je ponovo vraćena u kavez sa mladuncima desetog postnatalnog dana (PND 10). Ovo leglo predstavljalo je grupu materavno depriviranih pacova. Iz legla, koje je označeno kao kontrolna grupa, majka je odvojena na period od 15 minuta, za vreme čega je izmerena telesna masa pacova. Ovo leglo predstavljalo je kontrolnu grupu. Kod obe grupe, telesna masa je izmerena i devetog (PN 9) i desetog (PN 10) postnatalnog dana. Nakon toga mladunce nismo uznemiravali, osim zbog rutinskog čišćenja kaveza, do dvadeset i prvog postnatalnog dana (PN 21) kada smo izvršili klasifikaciju prema polu i ponovo izmerili telesnu masu. Formirane su četiri grupe životinja koje su praćene u dva termina. Prvi termin je obuhvatio dve grupe, kontrolnu i eksperimentalnu koje su praćene do trideset i petog postnatalnog dana (PN35). Drugi termin je obuhvatio takođe kontrolnu i eksperimentalnu grupu, koje su praćene do šezdesetog postnatalnog dana (PN60). Za morfometrijske i biohemijske studije koristili smo isključivo mužjake, kako bi izbegli seksualni dimorfizam (Woolley, 1992), jer su sve prethodne studije izvođene na mužjacima (Vivinetto, 2013; Own, 2013). Životinje su žrtvovane trideset i petog (PN35) i šezdesetog postnatalnog dana (PN 60). Pre žrtvovanja životinjama je merena telesna težina. Svi eksperimenti su sprovedeni u skladu Vodiča za brigu i korišćenje Laboratorijskih Životinja NIH - National Institute for Health.

## **Priprema tkiva za imunohistohemijsko bojenje**

Za ispitivanje morfoloških promena u dopaminergičkim jedrima mozga korišćeno je ukupno 20 životinja, odnosno za PN35 (n=10) – 5 kontrolnih i 5 eksperimentalnih životinja i za PN60 (n=10) – 5 kontrolnih i 5 eksperimentalnih životinja. Duboko anestetizirani pacovi (50 mg/kg, *i.p.*; Zoletil 50, Virbac, Francuska) su transkardijalno perfundovani, počevši sa ispiranjem krvnih sudova fiziološkim rastvorom do obezbojavanja jetre (250 ml 0.9% NaCl), a zatim 4% rastvorom paraformaldehida u 0.1M PBS-u (250 ml) i na kraju 10% rastvorom saharoze u 0.1M PBS-u (250 ml). Nakon transkardijalne perfuzije, životinje su žrtvovane dekapitacijom, a mozgovi su po odstranjenju dure mater i krvnih sudova odmah izolovani. Nakon toga, mozgovi su uronjeni u 4% rastvor paraformaldehida (24 sata na + 4<sup>0</sup> C) preko noći. Mозgovi su potom dehidratirani u 30% rastvoru saharoze u 0.1M PBS-u, gde su ostali do izjednačavanja osmotskog pritiska, odnosno do potonuća. Za sečenje tkiva, kaudalni pol mozga je pričvršćen za kriostatski nosač korišćenjem kriostatskog medijuma (Kilik, Italija). Ventralna površina mozga je orijentisana ka sečivu i pravljene su serijski koronarni preseki debljine 40 µm koji su za potrebe dalje analize bili sakupljeni u odgovarajućim vajlama (A-D). Preseci su do početka bojenja bili čuvani u antifrizu (40% rastvor etilen glikola u 0,1 M kalijum acetatu koji sadrži 1% polivinilpirolidon (PVP 40, Sigma, Aldrich, Nemačka) i odloženi na temperaturi od -20<sup>0</sup> C do daljeg korišćenja.

## **Opšti protokol za tirozin - hidroksilaza imunohistohemijsko bojenje**

Nefiksirane, slobodno plutajuće preseke smo bojili tirozin-hidroksilaza imunohistohemijskim bojenjem. Naime, preseke smo prvo ispirali 3 puta po 5 minuta u 0,1 M PBS-u (pH=7,4), nakon čega su u trajanju od 15 min bili stavljeni u rastvor 3% vodonik peroksida i metanola u PBS-u (3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> /CH<sub>3</sub>OH/PBS), sa ciljem blokiranja endogene peroksidaze. Preseci su potom ispirani 3 puta po 5 minuta u 0,1 M PBS-u (pH=7,4). Blokiranje nespecifičnog vezivanja primarnog antitela vršeno je 5% magarećim serumom rastvorenim u PBS-u (Sigma, Aldrich D- 9663/ PBS). Preseci su potom inkubirani primarnim antitelom (anti – TH monoklonal At, Sigma, Aldrich, T-2928) u razmeri 10 At 1:100, nakon čega su ostavljeni na +4<sup>0</sup>C u trajanju od 48 sati. Posle inkubacije u primarnom antitelu, mozgovi su ispirani u PBS-u 3 puta po 5 minuta. Nakon toga vršena je inkubacija sekundarnim antitelom u trajanju od 90 min (20 At donkey anti-maus HRP, SC-2318) u razmeri 1:50 u PBS-u. Nakon toga smo napravili DAB soluciju (diaminobenzen u koncentraciji od 50 mg rastvoren u 100 ml PBS i 10 µl 30%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) u kojoj se razvijala boja. Posle inkubacije u DAB-u, preseki su ispirani 5 min najpre u običnoj vodi, a potom u destilovanoj vodi i na kraju su stavljeni u PBS. Mозgove smo free - floating metodom navlačili na

mikroskopske pločice, koje su zatim ostavljene da se suše preko noći na sobnoj temperaturi. Sutradan, pločice smo ispirali u trajanju od 5 min u rastućim koncentracijama alkohola (70%, 96%, 100%), nakon čega smo ih provukli kroz ksilol kako bi se uklonile sve nečistoće. Posle nanošenja DPX medijuma (Sigma, Aldrich, Nemačka) i prekrivanja pločica pokrovnim staklima preseke tkiva smo spremili za dalju analizu Olympus CH2 (Japan) mikroskopom, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka). Za kvantifikaciju morfoloških promena u ispitivanim dopaminergičkim jedrima koristili smo program Image J 1.46 (NIH, SAD).

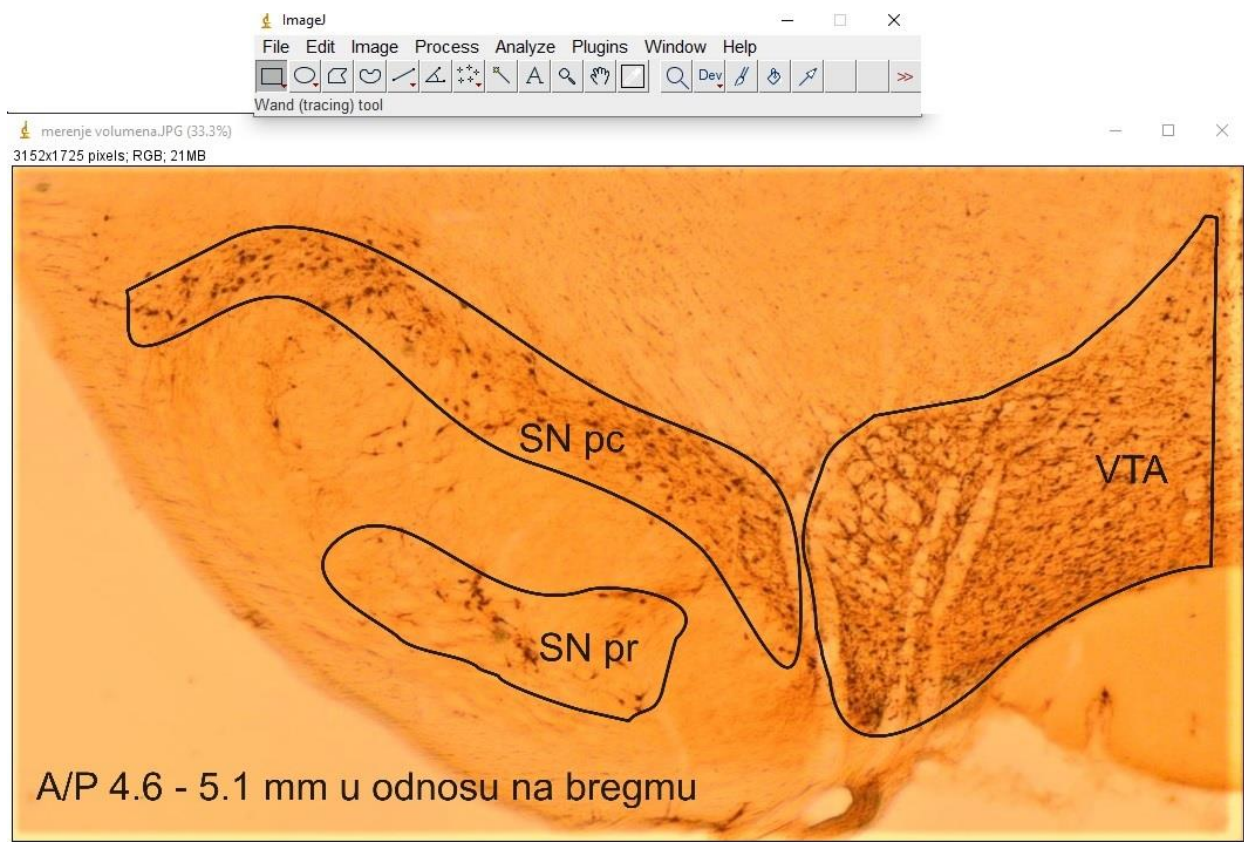
### **Ispitivanje morfoloških promena dopaminergičkih jedara**

Svi uzorci kontrolnih i eksperimentalnih mozгова su grupisani u tri stereotaksičke koordinate (A/P 4.60 – 5.10 mm; A/P 5.20 – 5.70 mm; A/P 5.80 – 6.30 mm) u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kroz celokupni rostro-kaudalni opseg SNpc, SNpr, VTA i LC. Volumen ispitivanih struktura je aproksimativno meren prema površini dobijenoj u programu Image J 1.46. Sva merenja su sprovedena obostrano u prethodno definisanim stereotaksičkim opsezima, nakon čega je srednja vrednost leve i desne hemisfere mozga uzeta kao finalna vrednost za statističku analizu.

### **Merenje volumena dopaminergičkih jedara**

Volumeni ispitivanih jedara (Slika 7.) su mereni prema Kavaljerijevom principu prema sledećoj formuli:

$(\text{Area 1 (leva hemisfera)} + \text{Area 2 (desna hemisfera)}) / 2 * 0,04$  (debljina preseka/ 1000). Sve dobijene vrednosti su izražene u mm<sup>3</sup>.

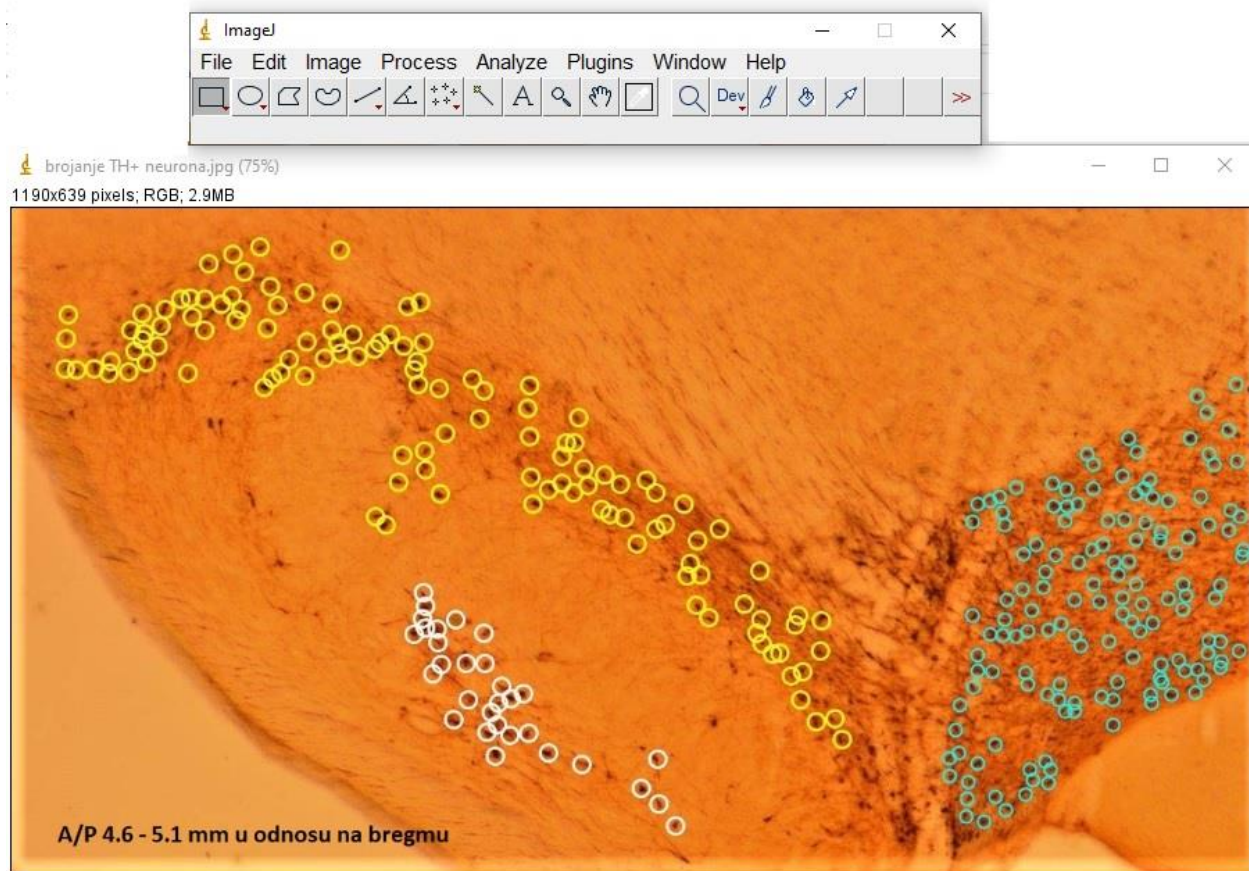


Slika 7. Reprezentativni primer merenja volumena ispitivanih jedara u polovini mozga u programu Image J. Crnim linijama su aproksimativno označeni volumeni sledećih struktura : SN pc – substantia nigra pars compacta; SN pr – substantia nigra pars reticulata; VTA – ventralna tegmentalna area.

### **Brojanje TH+ neurona u volumenu ispitivanih dopaminergičkih jedara**

Broj TH+ neurona (Slika 8.) je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja, pri čemu je srednja vrednost obe hemisfere uzeta kao finalna vrednost za statističku analizu. Sve vrednosti su predstavljene kao ukupan broj TH+ ćelija izbrojan na stereološkim mikrografijama u definisanim stereotaksičkim opsezima za svako ispitivano jedro.





Slika 8. Reprezentativni prikaz brojanja TH+ neurona u ispitivanim jedrima u polovini mozga u programu Image J. TH+ neuroni su predstavljeni kružićima u bojama na sledeći način : VTA – plavi boja; SN pc – žuta boja; SN pr – bela boja.

### **Ispitivanje gustine TH+ neurona u dopaminergičkim jedrima**

Procena gustine TH+ neurona je rađena na mikrografijama korišćenjem Image Tool 1.6 i ImageJ software-a u nivou poprečnog preseka gde su najbolje vidljiva neuronska tela. Određivanje gustine TH+ neurona je mereno prema površini mikrografija u ispitivanim dopaminergičkim jedrima. Sva merenja su rađena bilateralno, pri čemu je srednja vrednost obe hemisfere uzeta kao finalna vrednost za statističku analizu. Gustina TH+ neurona je dobijena podelom ukupnog broja TH+ neurona sa volumenom ispitivane strukture.

## **Određivanje koncentracije kortikosterona u krvi**

Iz sve četiri grupe životinja, krv je biti uzeta punkcijom iz desne srčane pretkomore prilikom intrakardijalne perfuzije. Posle uzimanja uzorka, krv je ostala na sobnoj temperaturi u trajanju od 60 min da bi se stvorio koagulum. Nakon toga krv je centrifugirana u trajanju od 10 min na 2000 obrtaja sve do dobijanja seruma. Uzorci seruma su sakupljeni u epruvete i čuvani na temperaturi od  $-20^{\circ}\text{C}$  do daljeg korišćenja. Koncentracija kortikosterona je merena u uzorcima razblaženih seruma u razmeri 1:10, primenom komercijalno dostupnog enzimskog imunološkog testa (EIA; EURL, Pariz, Francuska). Prema uputstvu proizvođača, 100  $\mu\text{l}$  razblaženog seruma ili odgovarajućeg standarda je dodato u antitelima obložene bunariće mikrotitarske ploče. Potom je u svaki bunarić mikrotitarske ploče dodato 100  $\mu\text{l}$  enzimskog konjugata i inkubirano u trajanju od 24h na temperaturi od  $+4^{\circ}\text{C}$ . Po završenoj inkubaciji bunarići su ispirani odgovarajućim rastvorom za ispiranje. Nakon toga u svaki bunarić je dodato 200  $\mu\text{l}$  enzimskog supstrata tetrametilbenzidina (TMB) i inkubirano 30 minuta na sobnoj temperaturi, posle čega je dodat STOP rastvor. Apsorbanca je očitavana na 450 nm pomoću mikrotitarskog čitača u roku od 30 minuta od dodavanja STOP rastvora. Svi uzorci su očitani u duplikatu, a koncentracija kortikosterona je izračunata pomoću kalibracione krive dobijene na osnovu koncentracija standarda. Sve dobijene vrednosti koncentracija kortikosterona su predstavljene u ng/ml.

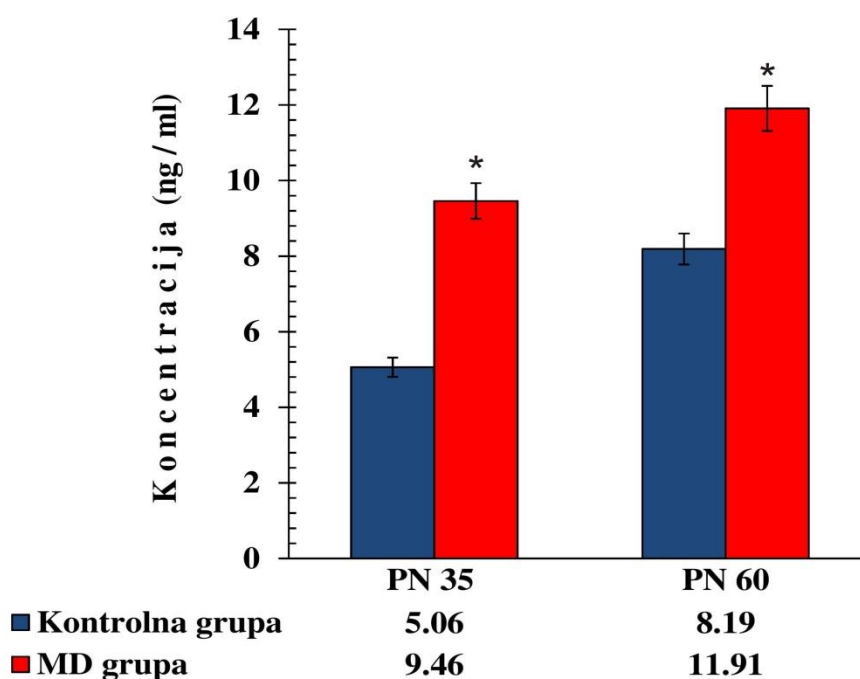
## **Statistička obrada**

Statistička obrada dobijenih rezultata između kontrolne i eksperimentalne grupe vršena je pomoću programa SPSS 11.0, odgovarajućim statističkim testovima, pre svega Studentovim t-testom za dva nezavisna uzorka. Ukoliko je verovatnoća da je nulta hipoteza („postoji razlika između posmatranih veličina“) tačna, bila jednaka ili manja od 5% ( $p \leq 0.05$ ), razlika je smatrana za statistički značajnu. Rezultati su prikazani tabelarno i grafičkim stubičastim dijagramima. Grafički prikaz je urađen u programu Excel 2010.

## **REZULTATI**

## 1. Uticaj maternalne deprivacije na koncentraciju kortikosterona u krvi kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan i adultnih pacova – 60 postnatalni dan

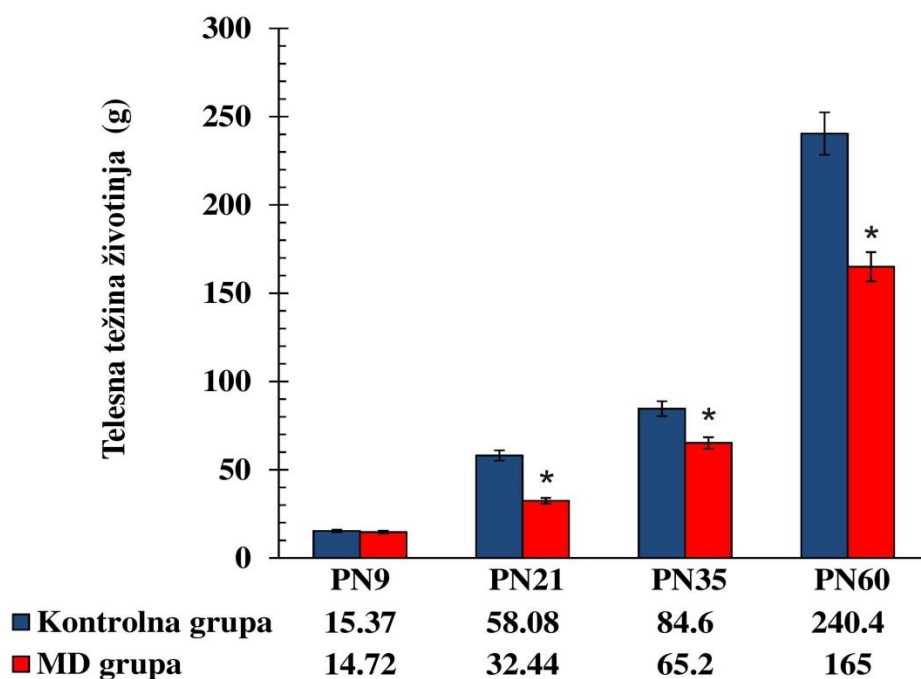
Koncentracija kortikosterona je izračunata pomoću kalibracione krive dobijene na osnovu koncentracija standarda. Sve dobijene vrednosti koncentracija kortikosterona su predstavljene u ng/ml. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka u maternalno depriviranoj grupi životinja se uočava statistički značajno povećanje koncentracije kortikosterona kod adolescentnih i adultnih pacova ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (Grafikon 1.)



Grafikon 1. Grafički prikaz koncentracija kortikosterona u kontrolnoj i maternalno depriviranoj grupi životinja. Poređenjem dve ispitivane grupe u periodu adolescencije (PN35) se uočava povećanje koncentracije kortikosterona u maternalno depriviranoj grupi životinja 1.87 x ( $p = 0.012$ ). U periodu zrelog doba (PN60) kod MD grupe životinja se uočava statistički značajno povećanje koncentracije kortikosterona 1.45 x ( $p = 0.037$ ).

## 2. Uticaj maternalne deprivacije na telesnu težinu životinja u neonatalnom periodu – 9 postnatalni dan , juvenilnom periodu – 21 postnatalni dan , adolescentnom periodu – 35 postnatalni dan i adultnom periodu – 60 postnatalni dan

Telesna težina životinja je merena pre odvajanja eksperimentalne grupe od majke, 9-og postnatalnog dana, kao i nakon vraćanja majke u leglo, 10-og postnatalnog dana. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka dobijeni rezultati se nisu statistički značajno razlikovali ( $p > 0.05$ ). Telesna težina životinja je merena i u juvenilnom, adolescentnom i adultnom periodu. Statističkom analizom dobijenih rezultata pokazano je smanjenje telesne težine eksperimentalnih životinja u navedenim periodima života ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (Grafikon 2.).



Grafikon 2. Grafički prikaz dobijenih rezultata telesnih težina (g) kontrolnih i eksperimentalnih životinja. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka uočava se statistički značajno smanjenje telesne težine u maternalno depriviranoj grupi životinja u juvenilnom periodu 1.79 x ( $p = 0.00001$ ), adolescentnom periodu 1.30 x ( $p = 0.011$ ) i adultnom periodu 1.46 x ( $p = 0.0004$ ). U neonatalnom periodu analizom dobijenih rezultata nismo dobili statistički značajne promene u telesnoj težini ( $p > 0.05$ ).

### 3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen dopaminergičkih struktura kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

#### 3.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

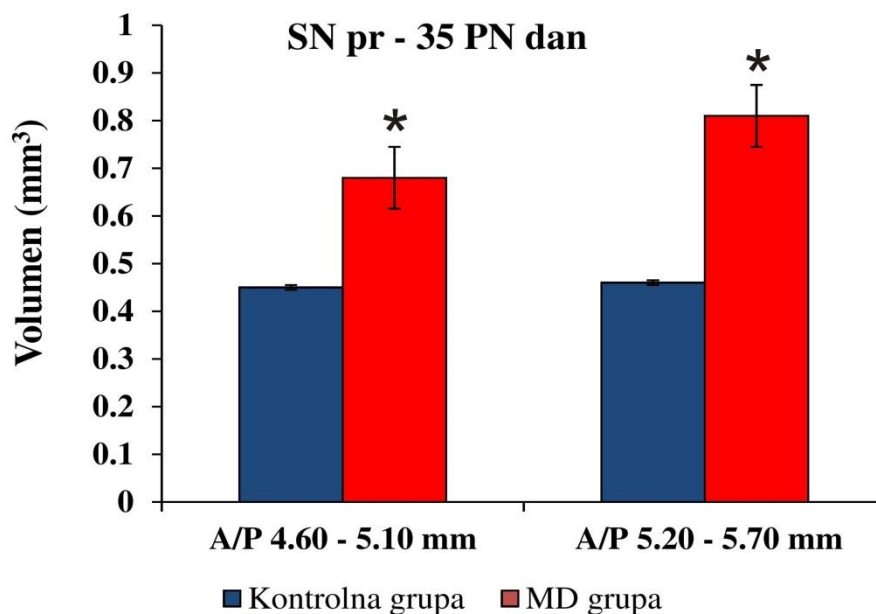
Volumen pars reticulata substantiae nigrae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kraniometrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 2 – 3.) i grafički (grafikon 3.)

Tabela 2. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars reticulata substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars reticulata 35 postnatalni dan A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.52	MD1	0.55
K2	0.35	MD2	0.69
K3	0.48	MD3	0.60
K4	0.45	MD4	0.64
K5	0.45	MD5	0.92
Srednja vrednost ±SD	0.45 ± 0.06	Srednja vrednost ±SD	0.68 ± 0.14

Tabela 3. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars reticulata substantiae nigrae u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars reticulata			
35 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.46	MD1	0.75
K2	0.46	MD2	0.70
K3	0.51	MD3	0.69
K4	0.48	MD4	0.62
K5	0.41	MD5	1.29
Srednja vrednost ±SD	0.46 ± 0.04	Srednja vrednost ±SD	0.81 ± 0.27



Grafikon 3. Volumen pars reticulata substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm i A/P 5.20 – 5.70 mm. U koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod MD grupe životinja uočava se povećanje volumena 1.51 x ( $p = 0.011$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.76 x ( $p = 0.023$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 3.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen ventralne tegmentalne areae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Volumen ventralne tegmentalne areae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 4-6) i grafički (grafikon 4.)

Tabela 4. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen ( $\text{mm}^3$ ) ventralne tegmentalne areae			
35 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.27	MD1	1.82
K2	1.05	MD2	1.80
K3	0.86	MD3	2.22
K4	1.05	MD4	1.72
K5	1.06	MD5	2.35
Srednja vrednost $\pm$ SD	1.06 $\pm$ 0.15	Srednja vrednost $\pm$ SD	1.98 $\pm$ 0.28

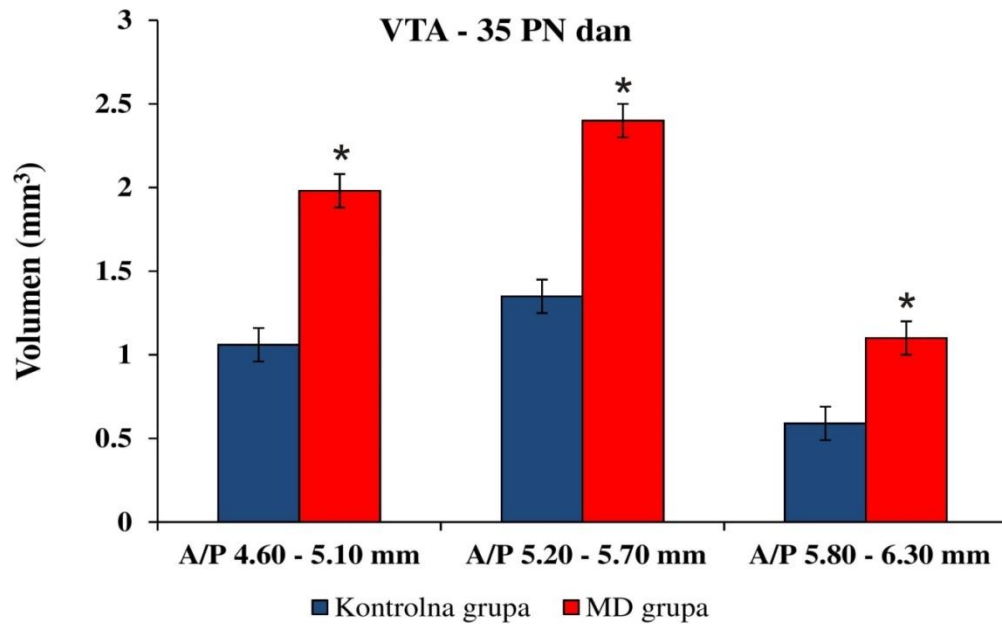


Tabela 5. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) ventralne tegmentalne areae			
35 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.61	MD1	1.80
K2	0.93	MD2	2.61
K3	1.11	MD3	2.12
K4	1.75	MD4	2.17
K5	0.35	MD5	3.29
Srednja vrednost ±SD	1.35±0.34	Srednja vrednost ±SD	2.40±0.58

Tabela 6. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) ventralne tegmentalne areae			
35 postnatalni dan			
A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.54	MD1	1.27
K2	0.59	MD2	1.06
K3	0.64	MD3	0.72
K4	0.60	MD4	0.85
K5	0.59	MD5	1.60
Srednja vrednost ±SD	0.59±0.04	Srednja vrednost ±SD	1.10±0.35



Grafikon 4. Volumen ventralne tegmentalne areae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje volumena 1.87 x ( $p = 0.0001$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.78 x ( $p = 0.008$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje volumena u MD grupi 1.86 x ( $p = 0.012$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 3.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Volumen pars compacta substantiae nigrae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 7 – 9.) i grafički (grafikon 5.).

Tabela 7. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

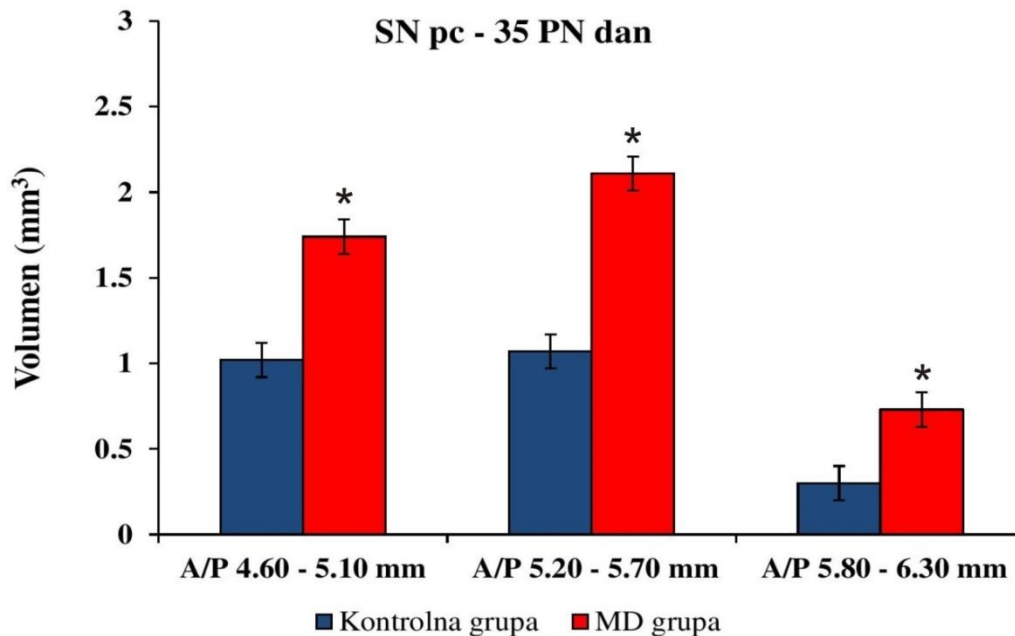
Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta 35 postnatalni dan A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.98	MD1	1.62
K2	0.85	MD2	1.70
K3	1.18	MD3	1.59
K4	1.07	MD4	1.12
K5	1.02	MD5	2.66
Srednja vrednost ±SD	1.02±0.12	Srednja vrednost ±SD	1.74±0.56

Tabela 8. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigre u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

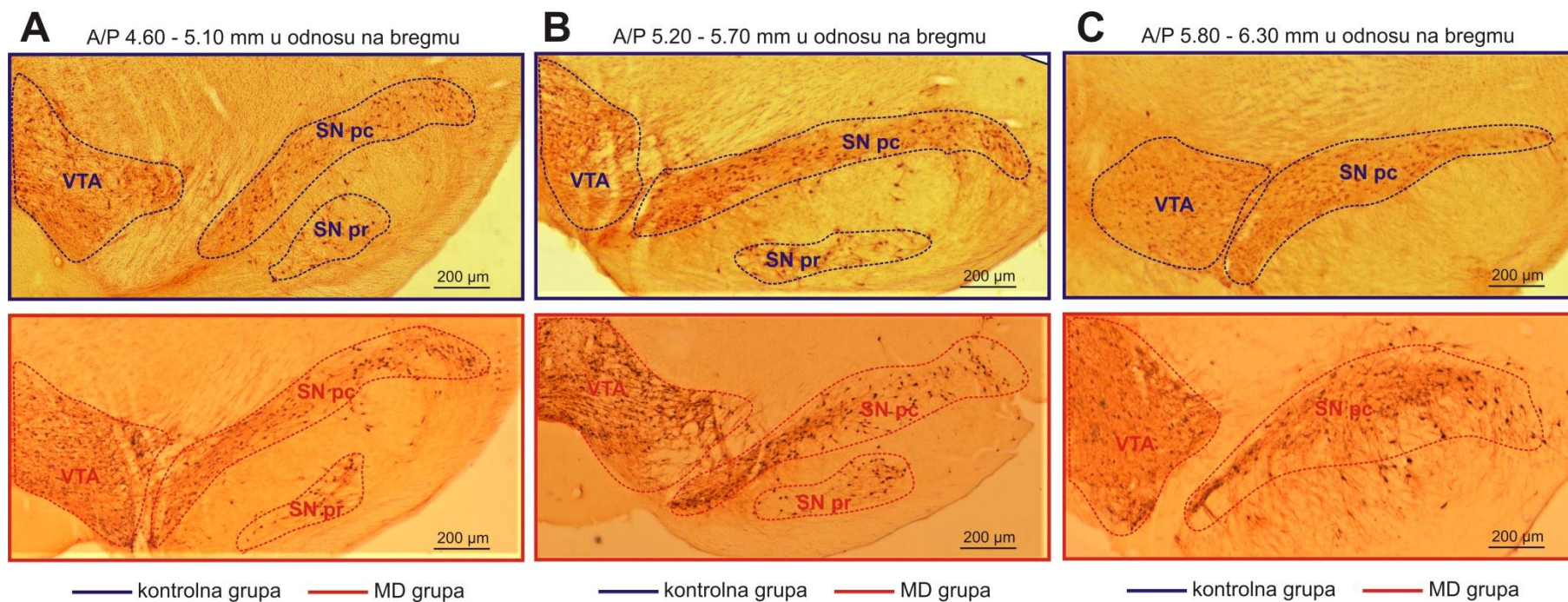
Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta 35 postnatalni dan A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.10	MD1	1.95
K2	1.07	MD2	1.22
K3	0.85	MD3	1.87
K4	1.07	MD4	1.75
K5	0.15	MD5	2.77
Srednja vrednost ±SD	1.07±0.15	Srednja vrednost ±SD	2.11±0.41

Tabela 9. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigre u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta 35 postnatalni dan A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.29	MD1	0.75
K2	0.30	MD2	0.73
K3	0.32	MD3	0.63
K4	0.30	MD4	0.75
K5	0.30	MD5	0.79
Srednja vrednost ±SD	0.30±0.01	Srednja vrednost ±SD	0.73±0.06



Grafikon 5. Volumen pars compacta substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje volumena 1.71 x ( $p = 0.024$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.97 x ( $p = 0.001$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje volumena u MD grupi 2.43 x ( $p = 0.0001$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



Slika 9. Uticaj maternalne deprivacije na volumen ispitivanih dopaminergičkih struktura u periodu adolescencije (PN 35). Reprezentativni primeri šest mikrografija polovine mozga u odgovarajućim stereotaksičkim koordinatama : (A) 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu; (B) 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu; (C) 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Volumen ispitivanih struktura je prikazan isprekidanim linijama. Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x. VTA – ventralna tegmentalna area; SN pc – substantia nigra pars compacta; SN pr – substantia nigra pars reticulata.

#### 4. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen dopaminergičkih struktura kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

##### 4.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

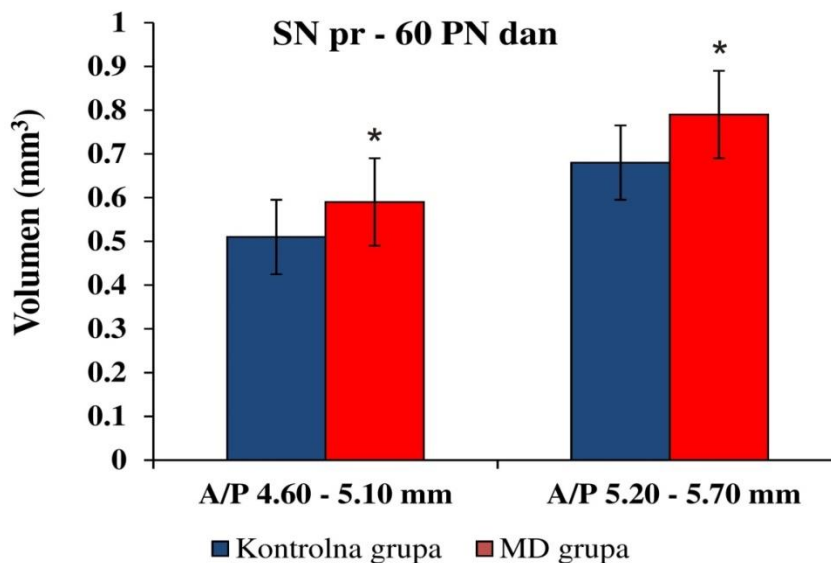
Volumen pars reticulata substantiae nigrae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 10 – 11.) i grafički (grafikon 6.)

Tabela 10. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars reticulata substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars reticulata 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.50	MD1	0.54
K2	0.54	MD2	0.62
K3	0.50	MD3	0.66
K4	0.51	MD4	0.60
K5	0.52	MD5	0.55
Srednja vrednost ±SD	0.51±0.02	Srednja vrednost ±SD	0.59 ±0.05

Tabela 11. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars reticulata substantiae nigre u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars reticulata			
60 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.72	MD1	0.80
K2	0.56	MD2	0.76
K3	0.69	MD3	0.77
K4	0.76	MD4	0.82
K5	0.68	MD5	0.79
Srednja vrednost ±SD	0.68±0.07	Srednja vrednost ±SD	0.79±0.02



Grafikon 6. Volumen pars reticulata substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm i A/P 5.20 – 5.70 mm. U koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod MD grupe životinja uočava se povećanje volumena 1.17 x ( $p = 0.018$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.16 x ( $p = 0.033$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



#### 4.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen ventralne tegmentalne areae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Volumen ventralne tegmentalne areae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 12 – 14.) i grafički (grafikon 7.)

Tabela 12. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

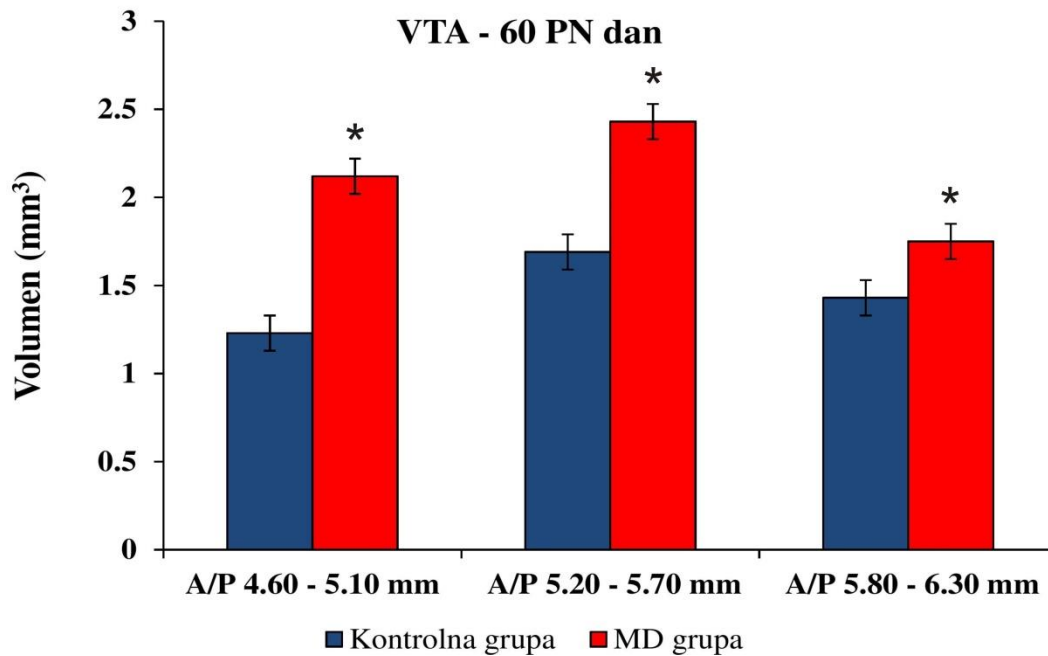
Volumen (mm <sup>3</sup> ) ventralne tegmentalne areae 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.17	MD1	1.84
K2	1.25	MD2	2.01
K3	1.26	MD3	2.27
K4	1.23	MD4	2.04
K5	1.23	MD5	2.44
Srednja vrednost ±SD	1.23±0.03	Srednja vrednost ±SD	2.12±0.24

Tabela 13. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) ventralne tegmentalne areae			
60 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.69	MD1	2.66
K2	1.64	MD2	2.65
K3	1.61	MD3	2.25
K4	1.81	MD4	2.45
K5	1.69	MD5	2.15
Srednja vrednost ±SD	1.69±0.08	Srednja vrednost ±SD	2.43±0.23

Tabela 14. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena ventralne tegmentalne areae u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) ventralne tegmentalne areae			
60 postnatalni dan			
A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.38	MD1	1.70
K2	1.39	MD2	1.47
K3	1.38	MD3	1.94
K4	1.56	MD4	1.89
K5	1.42	MD5	1.75
Srednja vrednost ±SD	1.43±0.08	Srednja vrednost ±SD	1.75±0.18



Grafikon 7. Volumen ventralne tegmentalne areae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje volumena 1.72 x ( $p = 0.0001$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.44 x ( $p = 0.001$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje volumena u MD grupi 1.22 x ( $p = 0.016$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 4.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Volumen pars compacta substantiae nigrae je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 15- 17) i grafički (grafikon 8.)

Tabela 15. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

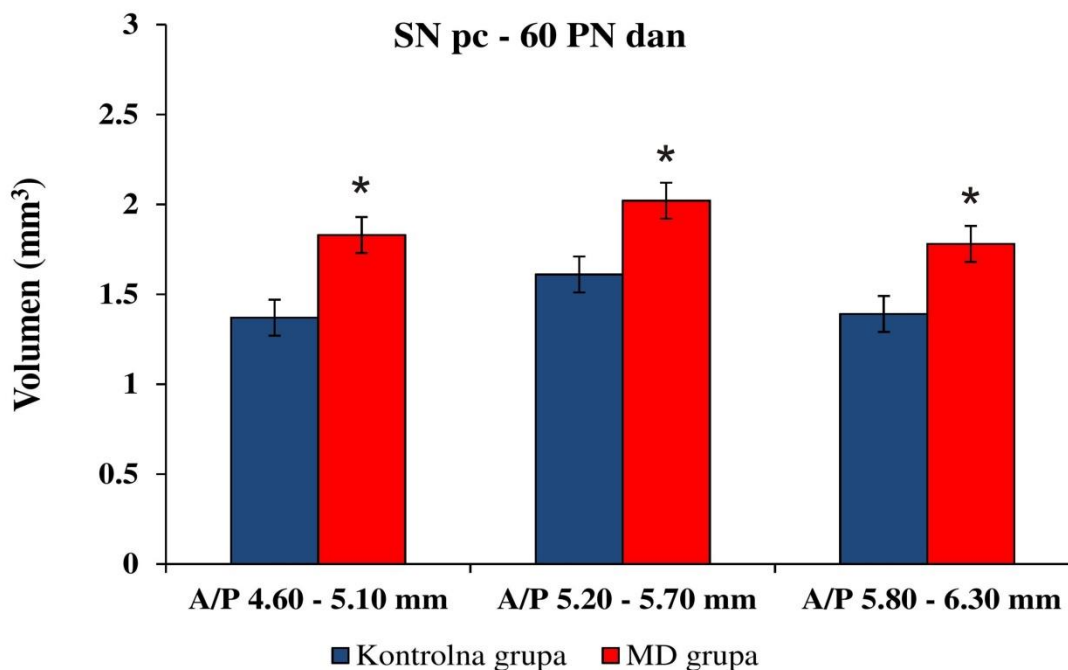
Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.30	MD1	2.00
K2	1.37	MD2	1.78
K3	1.45	MD3	1.69
K4	1.37	MD4	2.07
K5	1.38	MD5	1.59
Srednja vrednost ±SD	1.37±0.05	Srednja vrednost ±SD	1.83±0.20

Tabela 16. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigre u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova .

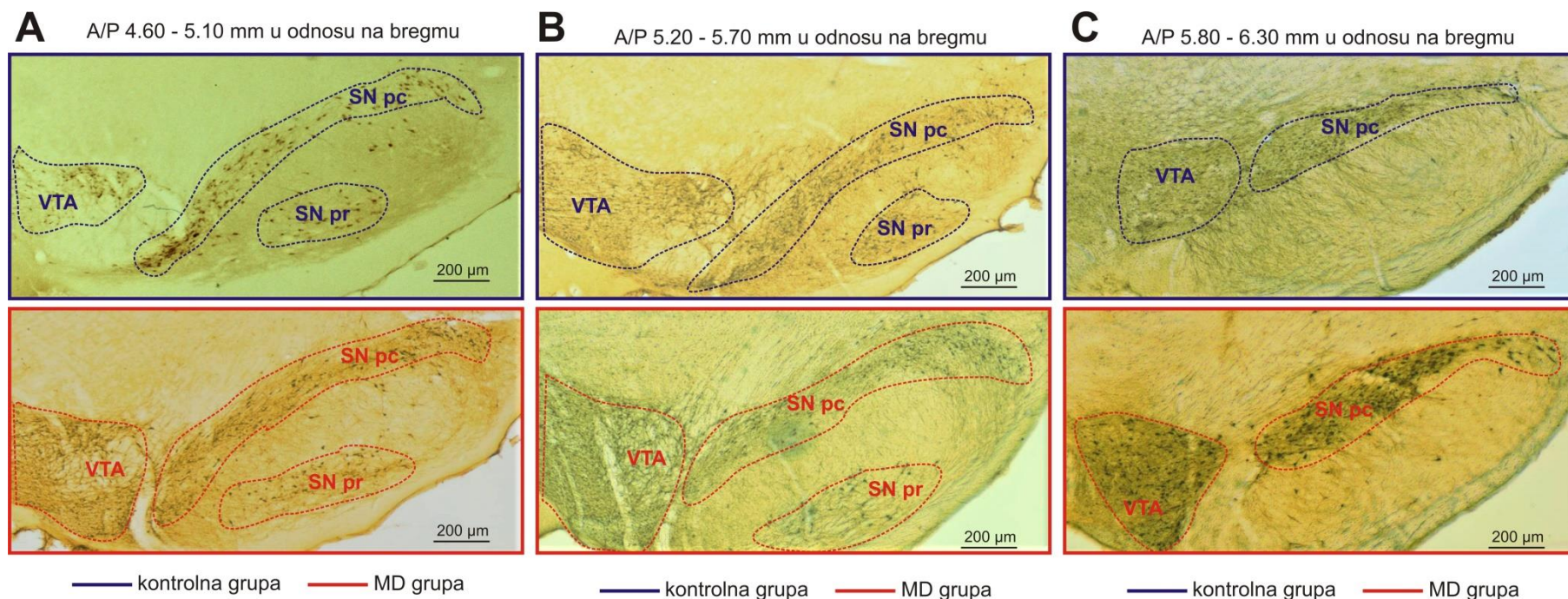
Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta			
60 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.54	MD1	1.97
K2	1.83	MD2	1.96
K3	1.46	MD3	1.97
K4	1.62	MD4	2.14
K5	1.61	MD5	2.07
Srednja vrednost ±SD	1.61±0.14	Srednja vrednost ±SD	2.02±0.08

Tabela 17. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena pars compacta substantiae nigre u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) substantiae nigrae pars compacta			
60 postnatalni dan			
A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	1.59	MD1	1.56
K2	1.34	MD2	1.40
K3	1.39	MD3	2.22
K4	1.22	MD4	1.89
K5	1.39	MD5	1.82
Srednja vrednost ±SD	1.39±0.13	Srednja vrednost ±SD	1.78±0.32



Grafikon 8. Volumen pars compacta substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje volumena 1.34 x ( $p = 0.004$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm volumen povećan 1.25 x ( $p = 0.001$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje volumena u MD grupi 1.28 x ( $p = 0.05$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



Slika 10. Uticaj maternalne deprivacije na volumen ispitivanih dopaminergičkih struktura u adultnom periodu (PN 60). Reprezentativni primeri šest mikrografija polovine mozga u odgovarajućim stereotaksičkim koordinatama : (A) 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu; (B) 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu; (C) 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Volumen ispitivanih struktura je prikazan isprekidanim linijama. Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x. VTA – ventralna tegmentalna area; SN pc – substantia nigra pars compacta; SN pr – substantia nigra pars reticulata.

## 5. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

### 5.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Broj TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 18-19.) i grafički (grafikon 9.)

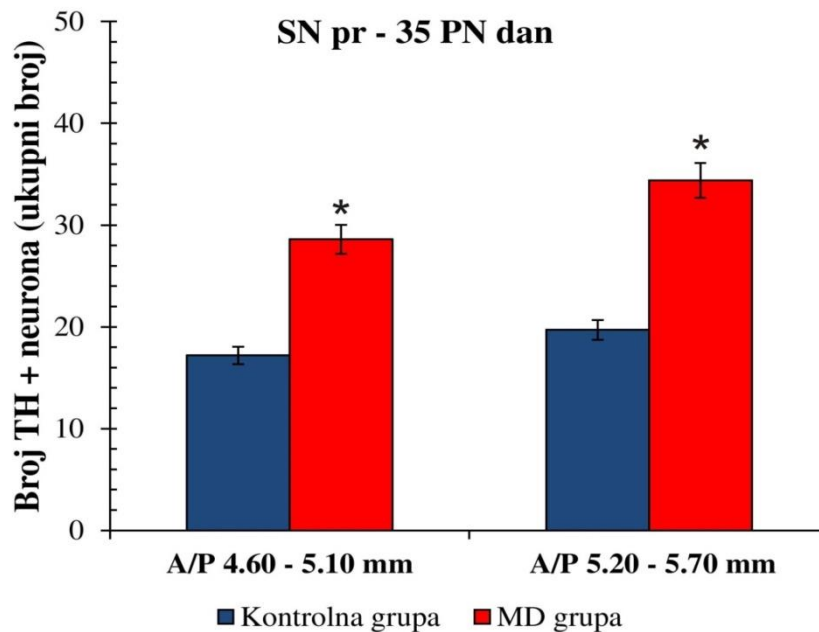
Tabela 18. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigre u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars reticulata 35 postnatalni dan A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	24	MD1	24.5
K2	19	MD2	31.5
K3	10.5	MD3	28.5
K4	19	MD4	29.5
K5	13.5	MD5	29
Srednja vrednost $\pm$ SD	17.20 $\pm$ 5.27	Srednja vrednost $\pm$ SD	28.60 $\pm$ 2.56



Tabela 19. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigre u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars reticulata			
35 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	15	MD1	29.5
K2	15	MD2	35.5
K3	28	MD3	38.5
K4	24	MD4	25
K5	16.5	MD5	43.5
Srednja vrednost ±SD	19.70 ±5.95	Srednja vrednost ±SD	34.40±7.30



Grafikon 9. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm i A/P 5.20 – 5.70 mm. U koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod MD grupe životinja uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.66 x ( $p = 0.002$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm broj TH+ neurona povećan 1.75 x ( $p = 0.008$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## 5.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Broj TH+ neurona ventralne tegmentalne areae je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 20 – 22.) i grafički (grafikon 10.)

Tabela 20. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

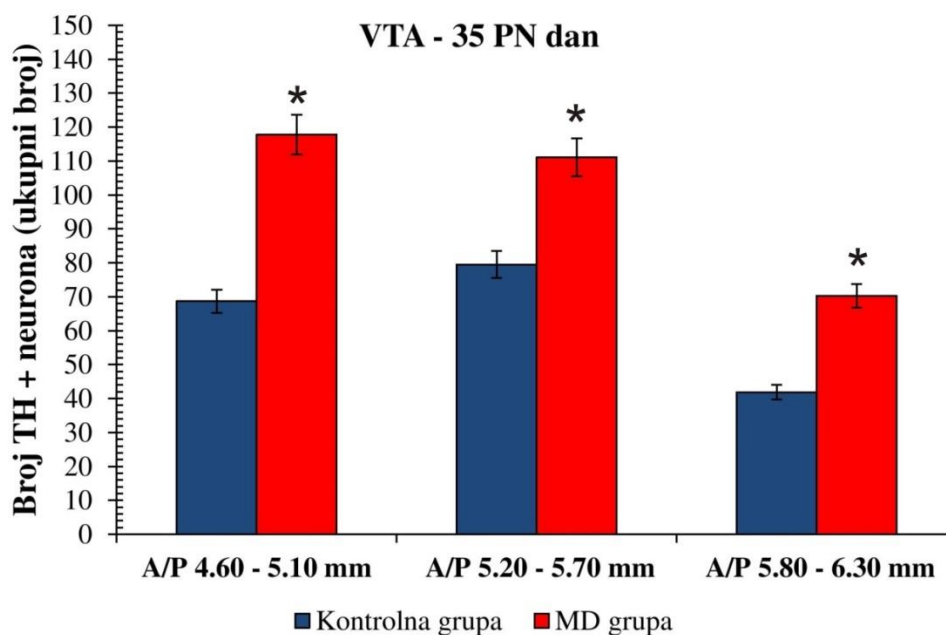
Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei 35 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	85.5	MD1	117.5
K2	87.5	MD2	140.5
K3	62	MD3	106
K4	64	MD4	109.5
K5	44.5	MD5	115.5
Srednja vrednost $\pm$ SD	68.70 $\pm$ 17.95	Srednja vrednost $\pm$ SD	117.80 $\pm$ 13.50

Tabela 21. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei			
35 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	79.5	MD1	107
K2	79.5	MD2	123
K3	65	MD3	111
K4	79.5	MD4	86
K5	94	MD5	128.5
Srednja vrednost ±SD	79.50 ±10.25	Srednja vrednost ±SD	111.10±16.52

Tabela 22. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei			
35 postnatalni dan			
A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	40	MD1	66.5
K2	45	MD2	67.5
K3	40.5	MD3	57
K4	45.5	MD4	73.5
K5	38.5	MD5	87
Srednja vrednost ±SD	41.90±3.15	Srednja vrednost ±SD	70.30 ±11.05



Grafikon 10. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u VTA u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.71 x ( $p = 0.001$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm broj TH+ neurona povećan 1.40 x ( $p = 0.007$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona u MD grupi 1.68 x ( $p = 0.001$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 5.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Broj TH+ neurona pars compacta substantiae nigrae je brojano bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 23 -25.) i grafički (grafikon 11.)

Tabela 23. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

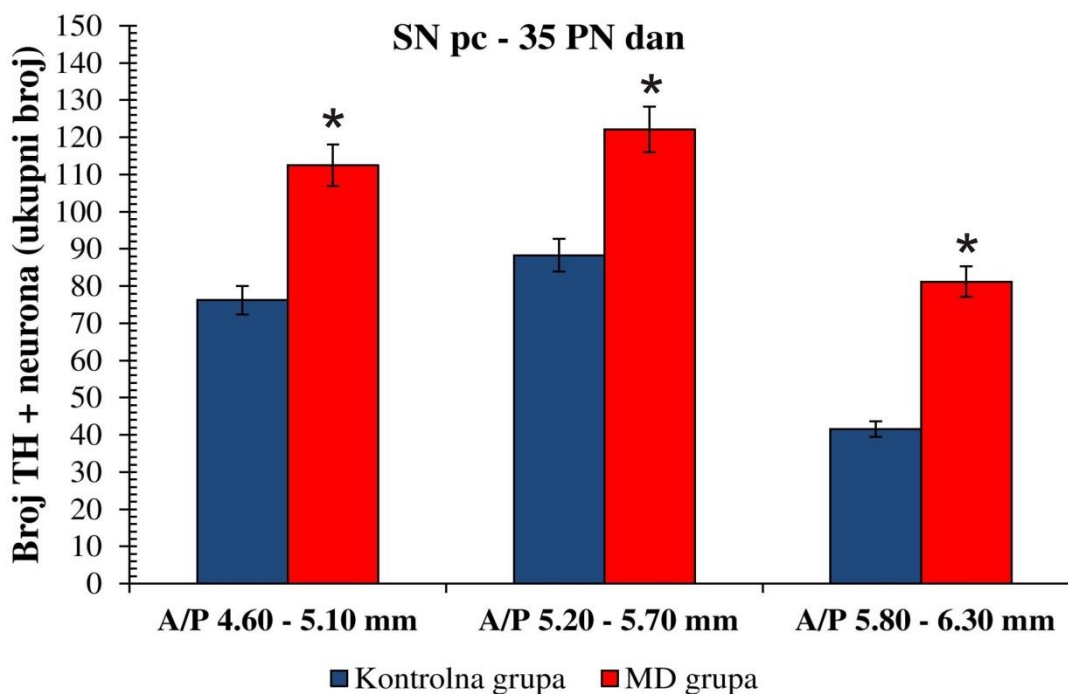
Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 35 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	80	MD1	106.5
K2	83.5	MD2	120
K3	103	MD3	91.5
K4	46.5	MD4	110.5
K5	68	MD5	134
Srednja vrednost $\pm$ SD	76.20 $\pm$ 20.83	Srednja vrednost $\pm$ SD	112.50 $\pm$ 15.81

Tabela 24. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 35 postnatalni dan A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	81	MD1	105.5
K2	95	MD2	146.5
K3	82	MD3	114.5
K4	95	MD4	114
K5	88.5	MD5	130
Srednja vrednost ±SD	88.30±6.76	Srednja vrednost ±SD	122.10±16.25

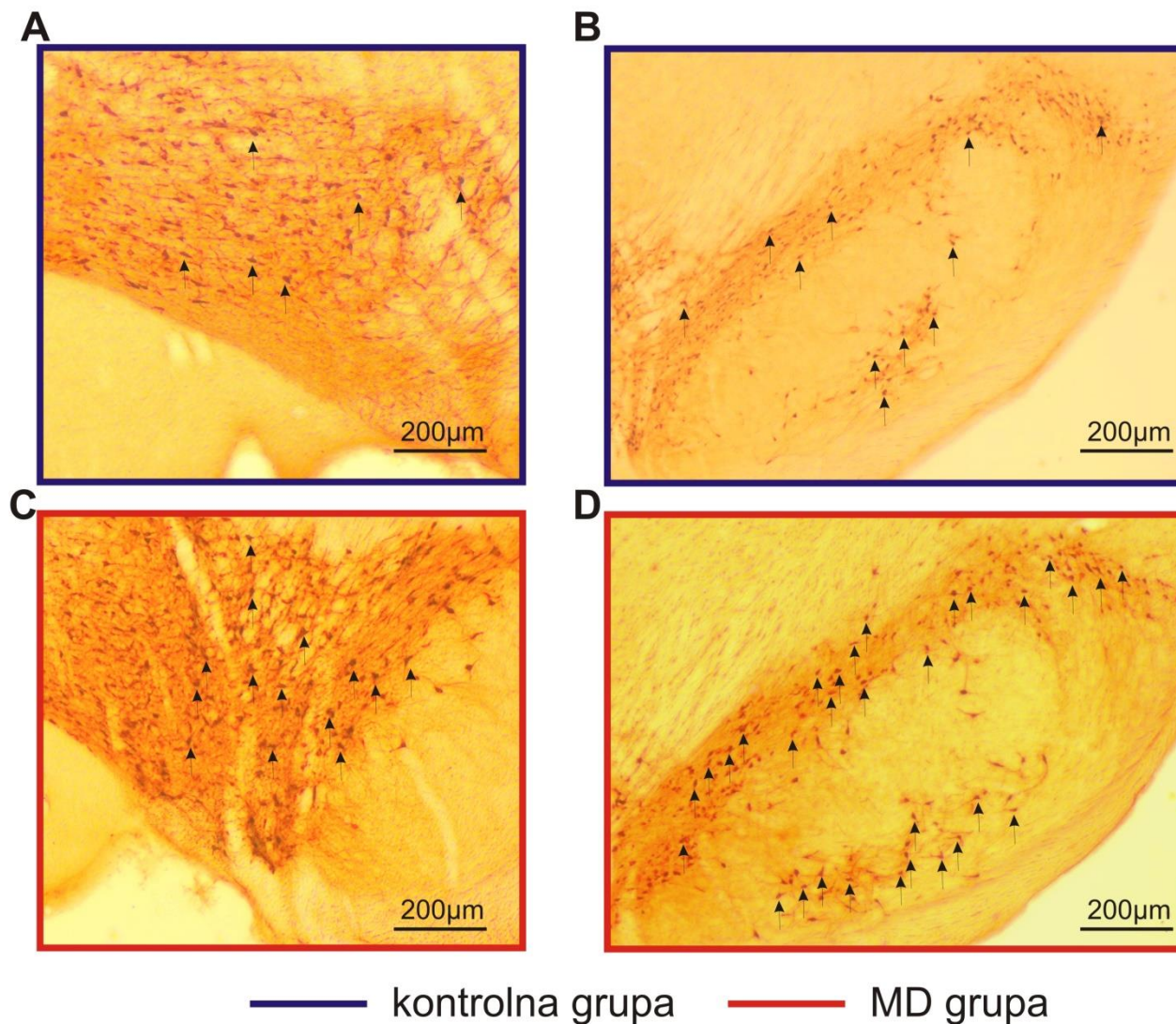
Tabela 25. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 35 postnatalni dan A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	33	MD1	83.5
K2	33.5	MD2	89
K3	38	MD3	67
K4	38.5	MD4	81.5
K5	65	MD5	85
Srednja vrednost ±SD	41.60 ±13.32	Srednja vrednost ±SD	81.20±8.40



Grafikon 11. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u pars compacta substantie nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.48 x ( $p = 0.015$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm broj TH+ neurona povećan 1.38 x ( $p = 0.003$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona u MD grupi 1.95 x ( $p = 0.001$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

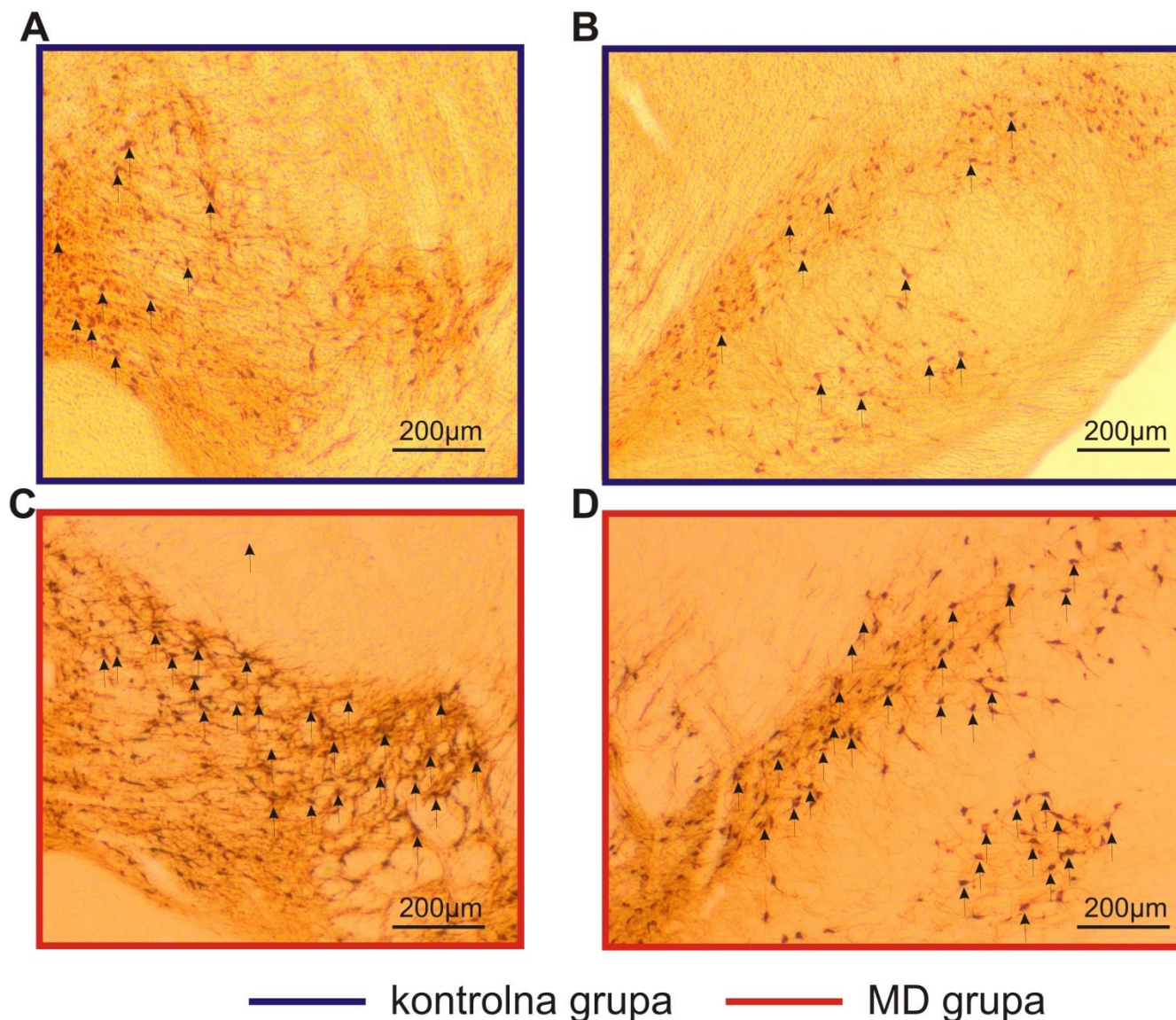
## A/P 4.60 - 5.10 mm u odnosu na bregmu



Slika 11. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkm strukturama u periodu adolescencije (PN 35). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta i pars reticulata substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

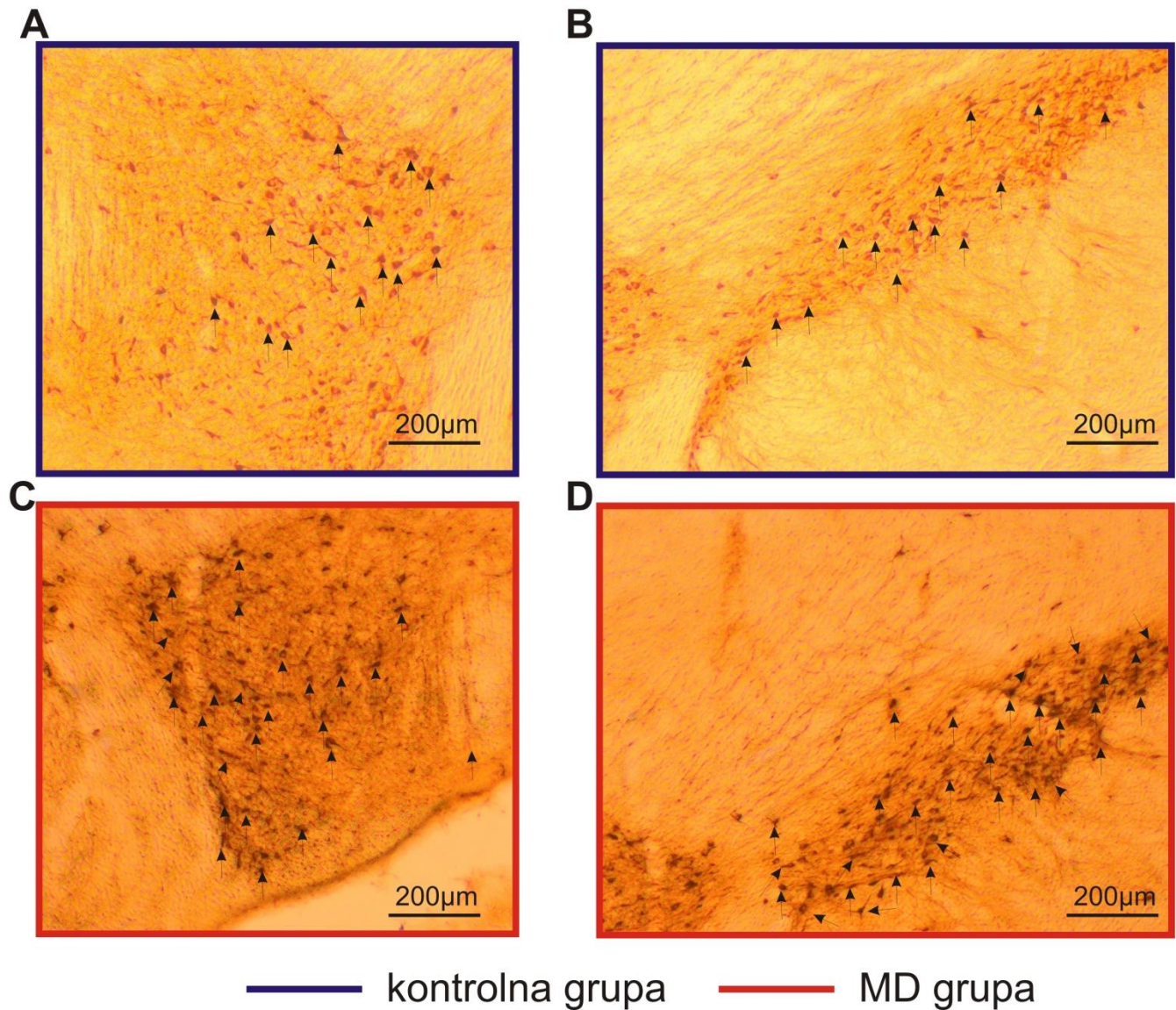


## A/P 5.20 - 5.70 mm u odnosu na bregmu



Slika 12. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkim strukturama u periodu adolescencije (PN 35). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta i pars reticulata substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

## A/P 5.80 - 6.30 mm u odnosu na bregmu



Slika 13. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkim strukturama u periodu adolescencije (PN 35). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

## 6. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

### 6.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

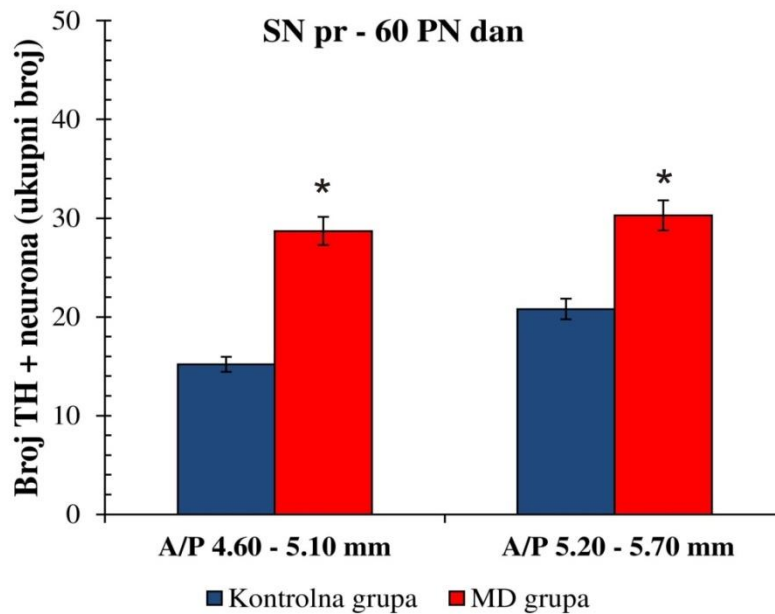
Broj TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 26 - 27) i grafički (grafikon 12.)

Tabela 26. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars reticulata 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	20.50	MD1	28.00
K2	15.00	MD2	32.00
K3	11.50	MD3	25.50
K4	13.50	MD4	29.00
K5	15.50	MD5	29.00
Srednja vrednost $\pm$ SD	15.20 $\pm$ 3.35	Srednja vrednost $\pm$ SD	28.70 $\pm$ 2.33

Tabela 27. Tabela prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigre u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars reticulata			
60 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	19.00	MD1	35.00
K2	17.50	MD2	30.00
K3	26.50	MD3	33.50
K4	20.00	MD4	22.50
K5	21.00	MD5	30.50
Srednja vrednost ±SD	20.80±3.44	Srednja vrednost ±SD	30.30±4.83



Grafikon 12. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm i A/P 5.20 – 5.70 mm. U koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod MD grupe životinja uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.89 x ( $p = 0.001$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 broj TH+ neurona povećan 1.46 x ( $p = 0.032$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## 6.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Broj TH+ neurona ventralne tegmentalne areae je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 28 – 30.) i grafički (grafikon 13.)

Tabela 28. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

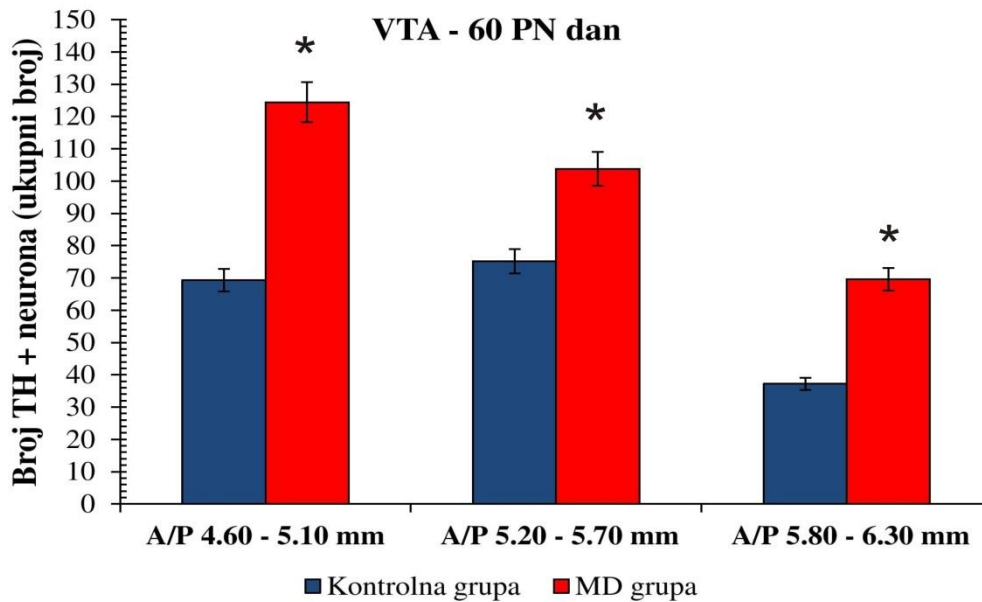
Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	62.50	MD1	126.00
K2	61.00	MD2	119.50
K3	79.00	MD3	111.00
K4	74.50	MD4	141.00
K5	69.50	MD5	124.50
Srednja vrednost $\pm$ SD	69.30 $\pm$ 7.69	Srednja vrednost $\pm$ SD	124.40 $\pm$ 10.97

Tabela 29. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei			
60 postnatalni dan			
A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	73.00	MD1	95.50
K2	69.50	MD2	114.50
K3	79.50	MD3	95.00
K4	78.50	MD4	110.00
K5	75.50	MD5	104.00
Srednja vrednost $\pm$ SD	75.20 $\pm$ 4.09	Srednja vrednost $\pm$ SD	103.80 $\pm$ 8.65

Tabela 30. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei			
60 postnatalni dan			
A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	43.50	MD1	73.00
K2	40.50	MD2	80.50
K3	30.50	MD3	40.50
K4	34.00	MD4	84.00
K5	37.50	MD5	70.00
Srednja vrednost $\pm$ SD	37.20 $\pm$ 5.14	Srednja vrednost $\pm$ SD	69.60 $\pm$ 17.21



Grafikon 13. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u VTA u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.79 x ( $p = 0.002$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm broj TH+ neurona povećan 1.38 x ( $p = 0.0001$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona u MD grupi 1.87 x ( $p = 0.021$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 6.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Broj TH+ neurona pars compacta substantiae nigrae je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 31 – 33.) i grafički (grafikon 14.)

Tabela 31. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 4.60 – 5.10 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	83.00	MD1	104.00
K2	70.50	MD2	122.00
K3	97.50	MD3	100.50
K4	83.00	MD4	112.50
K5	84.00	MD5	110.00
Srednja vrednost $\pm$ SD	83.60 $\pm$ 9.56	Srednja vrednost $\pm$ SD	109.80 $\pm$ 8.31

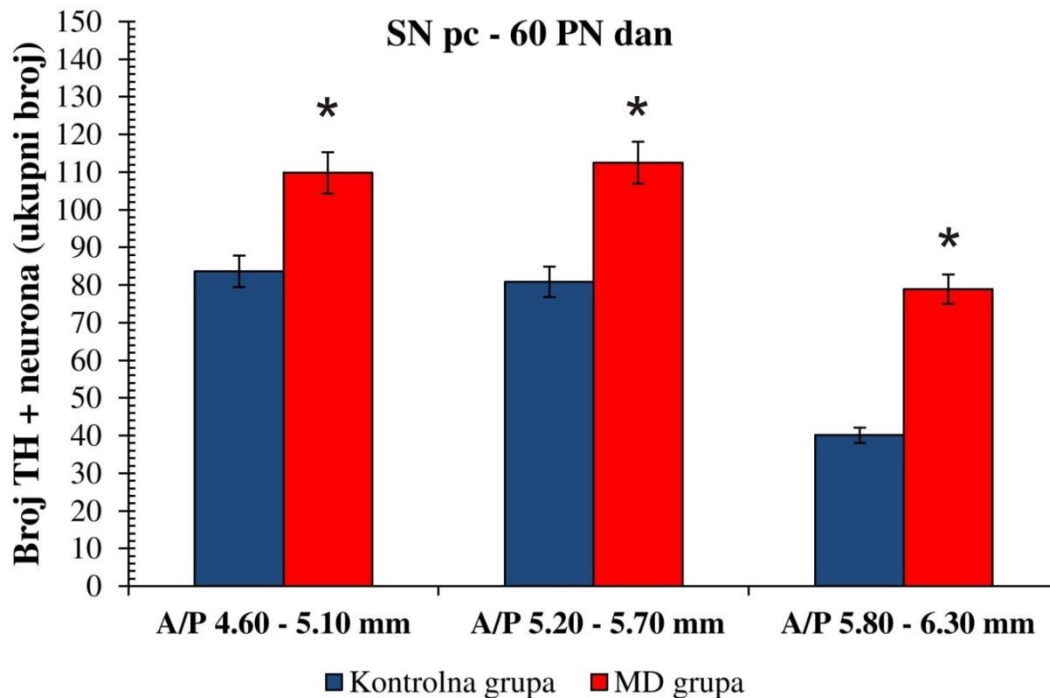


Tabela 32. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 5.20 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 60 postnatalni dan A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	68.50	MD1	112.00
K2	96.00	MD2	117.50
K3	72.50	MD3	127.50
K4	86.00	MD4	93.00
K5	81.00	MD5	112.50
Srednja vrednost ±SD	80.80±10.94	Srednja vrednost ±SD	112.50±12.55

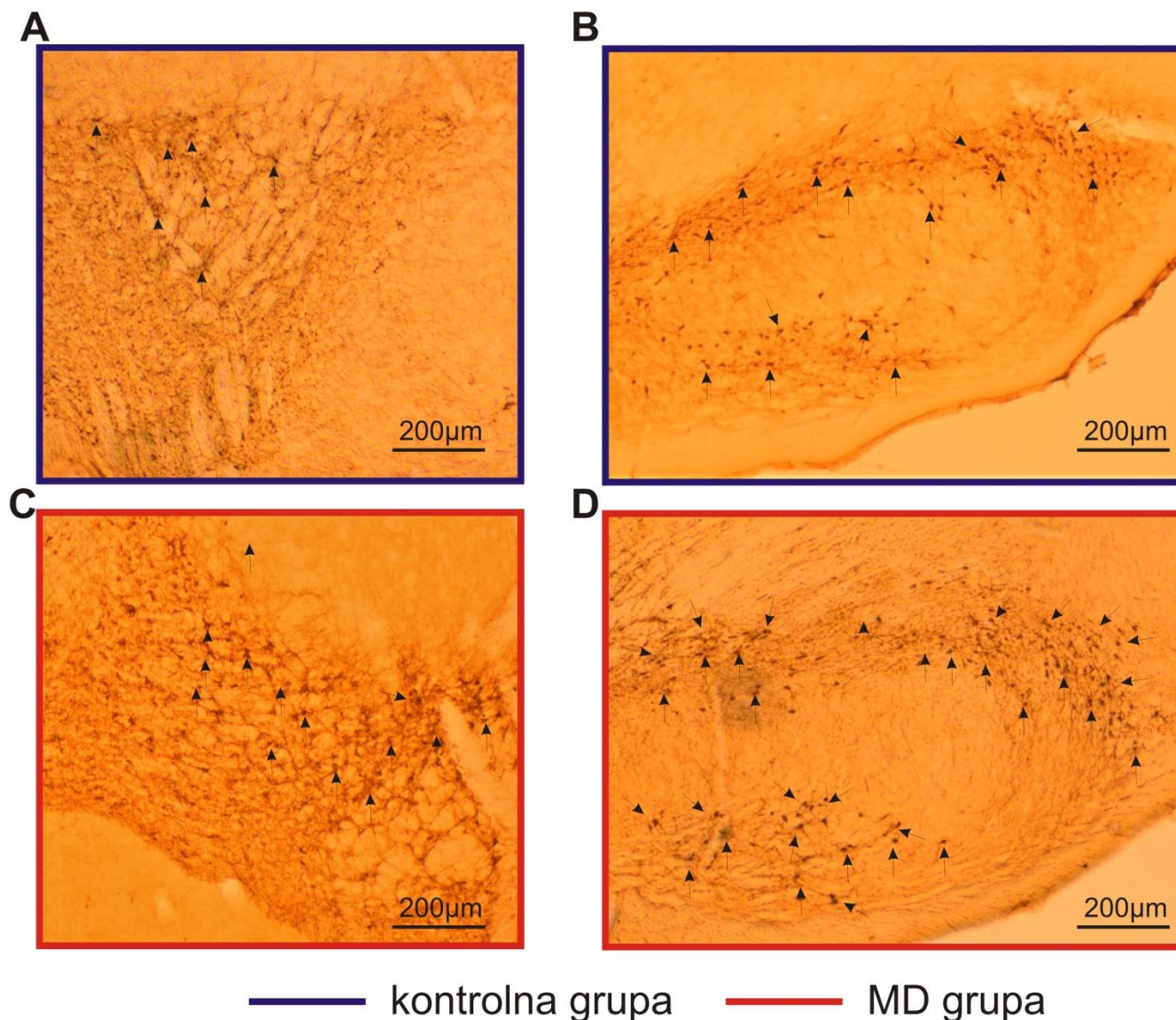
Tabela 33. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae u A/P 5.80 – 6.30 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u substantia nigra pars compacta 60 postnatalni dan A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	37.50	MD1	82.50
K2	41.50	MD2	70.50
K3	37.50	MD3	84.50
K4	43.50	MD4	78.00
K5	40.50	MD5	79.00
Srednja vrednost ±SD	40.10±2.61	Srednja vrednost ±SD	78.90±5.38



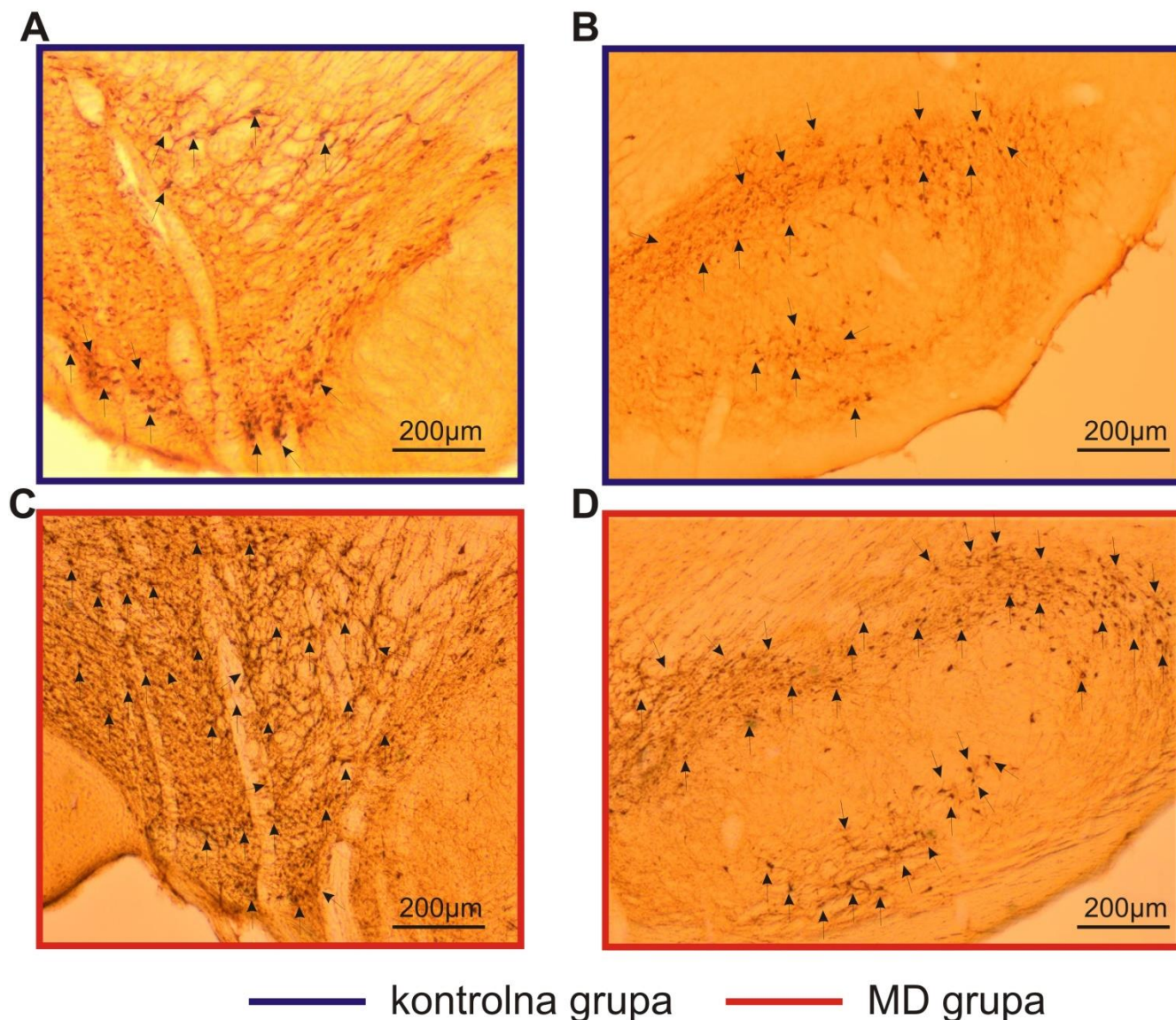
Grafikon 14. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u pars compacta substantie nigrae u koordinatama A/P 4.60 – 5.10 mm, A/P 5.20 – 5.70 mm i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Kod MD grupe životinja u koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona 1.31 x ( $p = 0.012$ ), dok je u istoj grupi životinja u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm broj TH+ neurona povećan 1.39 x ( $p = 0.016$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm uočava se povećanje broja TH+ neurona u MD grupi 1.97 x ( $p = 0.001$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## A/P 4.60 - 5.10 mm u odnosu na bregmu



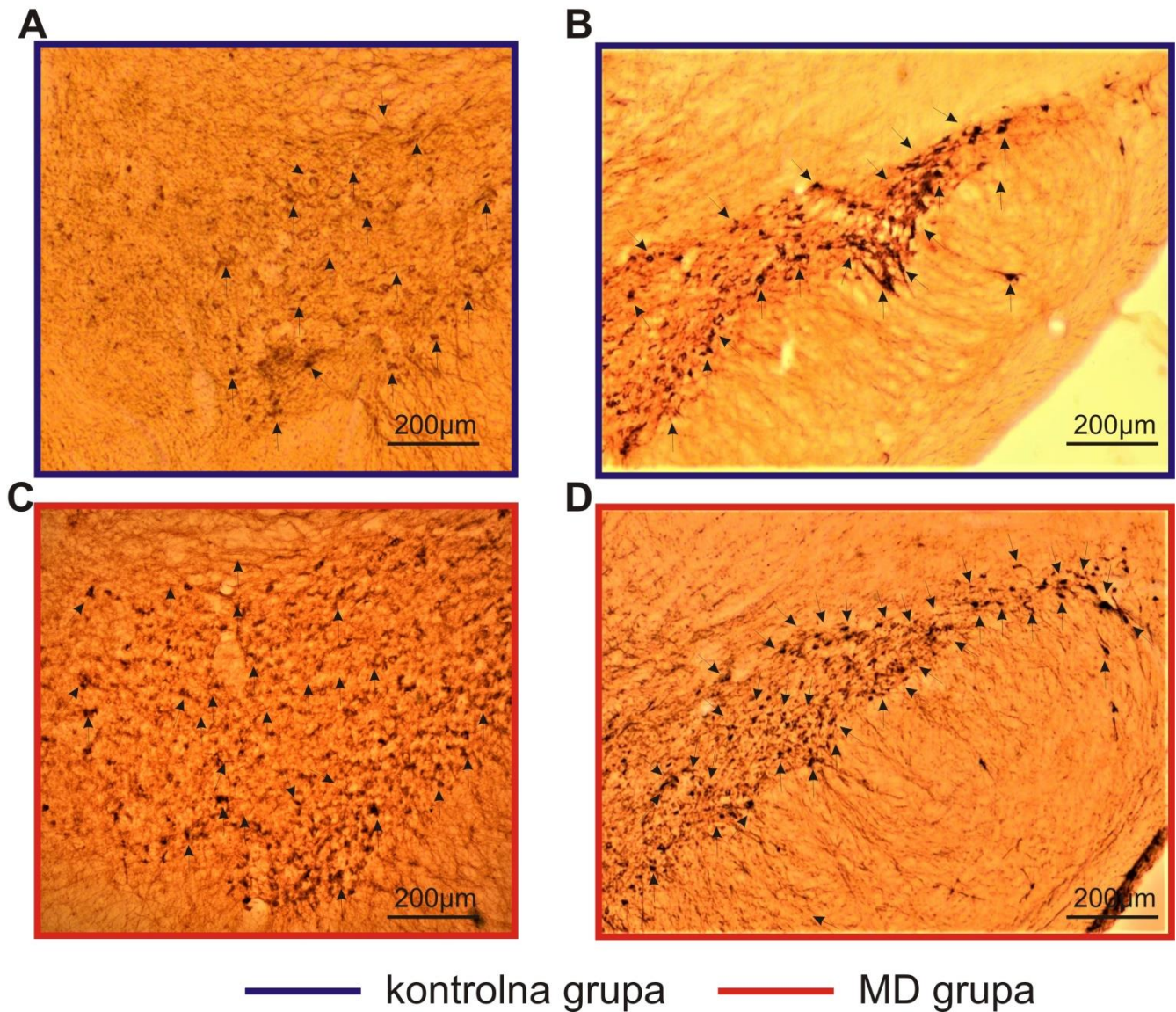
Slika 14. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkim strukturama u adultnom periodu (PN 60). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta i pars reticulata substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

## A/P 5.20 - 5.70 mm u odnosu na bregmu



Slika 15. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkim strukturama u adultnom periodu (PN 60). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta i pars reticulata substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

## A/P 5.80 - 6.30 mm u odnosu na bregmu

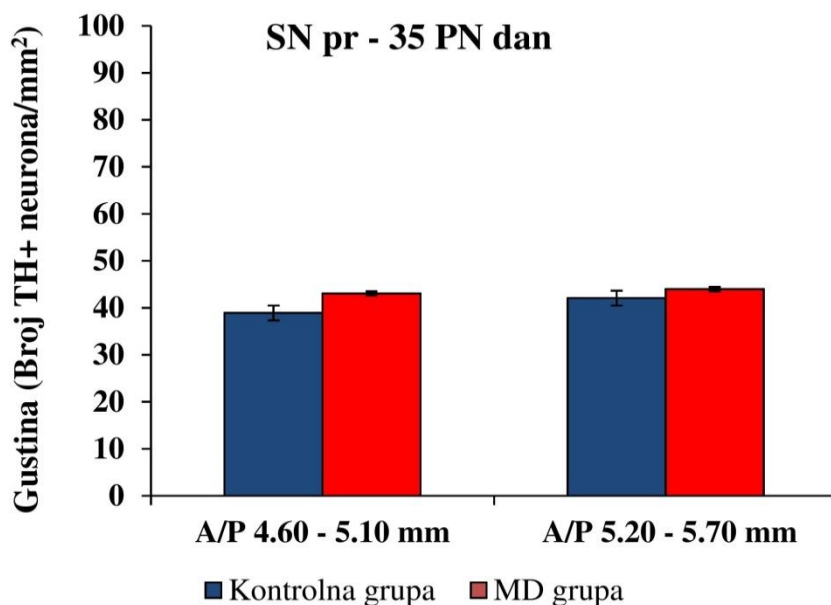


Slika 16. Uticaj maternalne deprivacije na ukupan broj TH+ neurona u ispitivanim dopaminergičkm strukturama u adultnom periodu (PN 60). Reprezentativni primeri četiri mikrografije polovine mozga u stereotaksičkoj koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu. (A,C) Crnim strelicama su označena tela neurona ventralne tegmentalne areae; (B,D) Crnim strelicama su označena tela neurona pars compacta substantiae nigrae. Mikrografije označene plavom bojom predstavljaju kontrolnu grupu životinja, dok mikrografije označene crvenom bojom prikazuju maternalno depriviranu grupu životinja (MD). Sve mikrografije su napravljene na Olympus CH2 (Japan) mikroskopu, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka) na uveličanju 20 x.

## 7. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

### 7.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

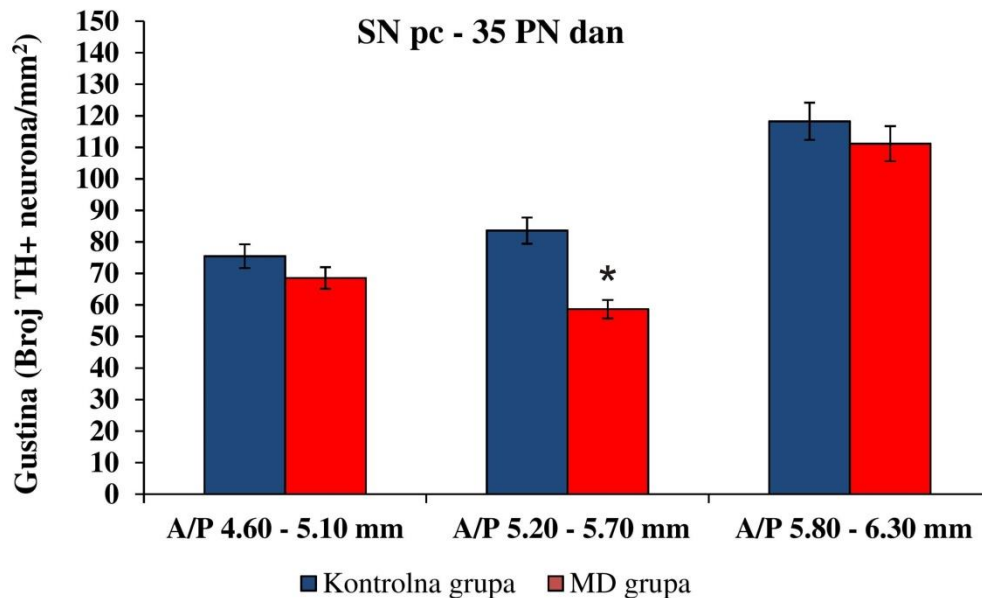
Gustina TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se ne uočava statistički značajna razlika u gustini TH+ neurona ( $p > 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 15.).



Grafikon 15. Grafički prikaz gustine TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata nismo dobili statički značajnu razliku u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ) i A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ).

## 7.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

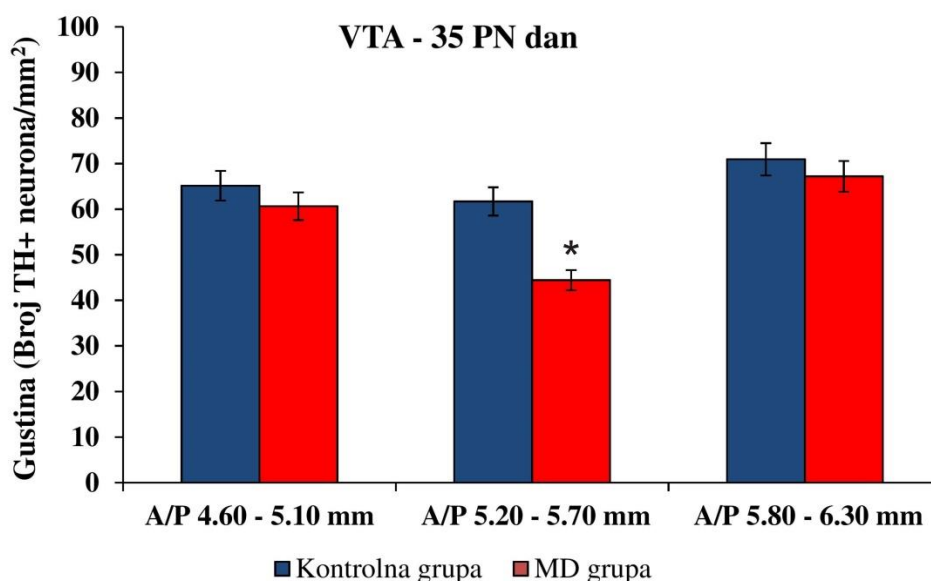
Gustina TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu uočava statistički značajno smanjenje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 16.).



Grafikon 16. Grafički prikaz gustine TH+ neurona pars compacta substantiae nigrae u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata nismo dobili statistički značajnu razliku u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ) i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ). U koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno smanjenje gustine TH+ neurona 1.42 x ( $p = 0.0004$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 7.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona ventralne tegmentalne areae kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Gustina TH+ neurona u ventralnom tegmentalnom području je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se u koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu uočava statistički značajno smanjenje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 17.).



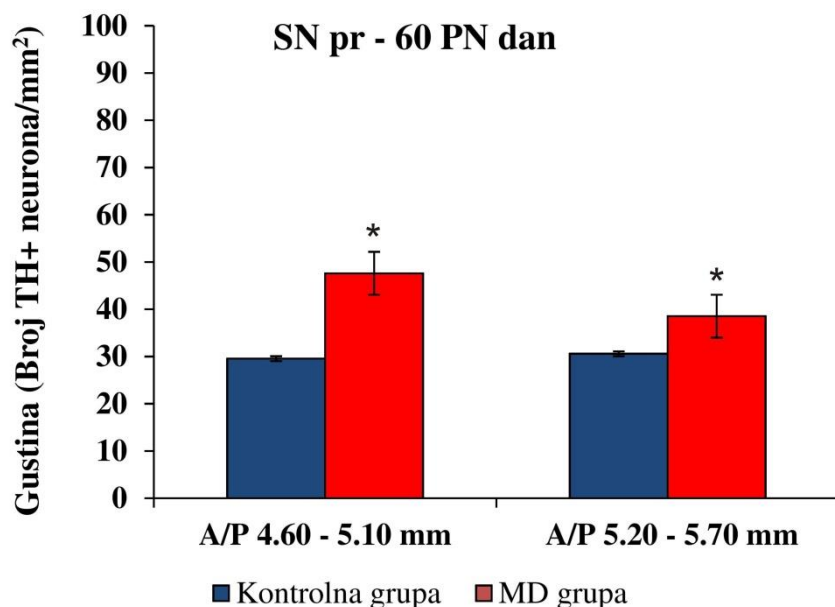
Grafikon 17. Grafički prikaz gustine TH+ neurona ventralne tegmentalne areae u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata nismo dobili statistički značajnu razliku u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ) i A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ). U koordinati A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno smanjenje gustine TH+ neurona 1.41 x ( $p = 0.04$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



## 8. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u dopaminergičkim strukturama kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

### 8.1. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

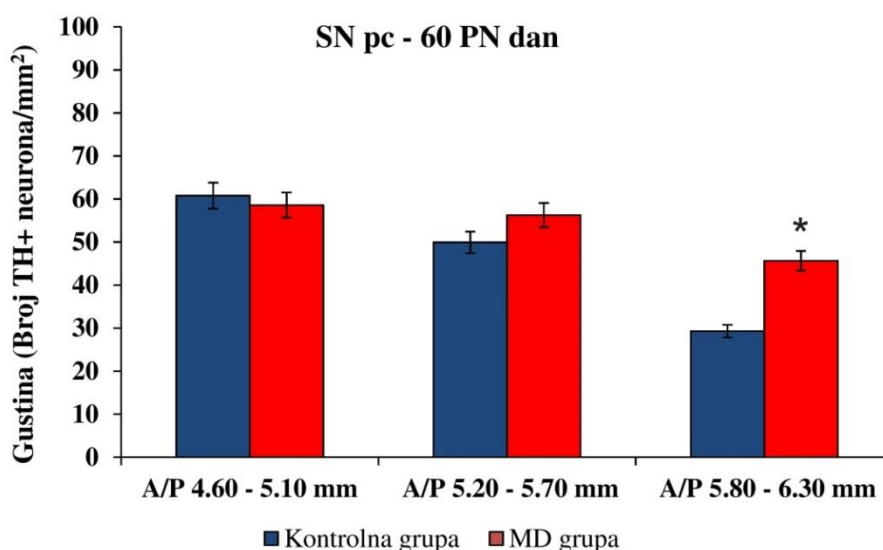
Gustina TH+ neurona u pars reticulata substantiae nigrae je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 18.).



Grafikon 18. Grafički prikaz gustine TH+ neurona pars reticulata substantiae nigrae u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata dobili smo statički značajno povećanje u gustini TH+ neurona u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu 1.60 x ( $p = 0.004$ ) i A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu 1.26 x ( $p = 0.049$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## 8.2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

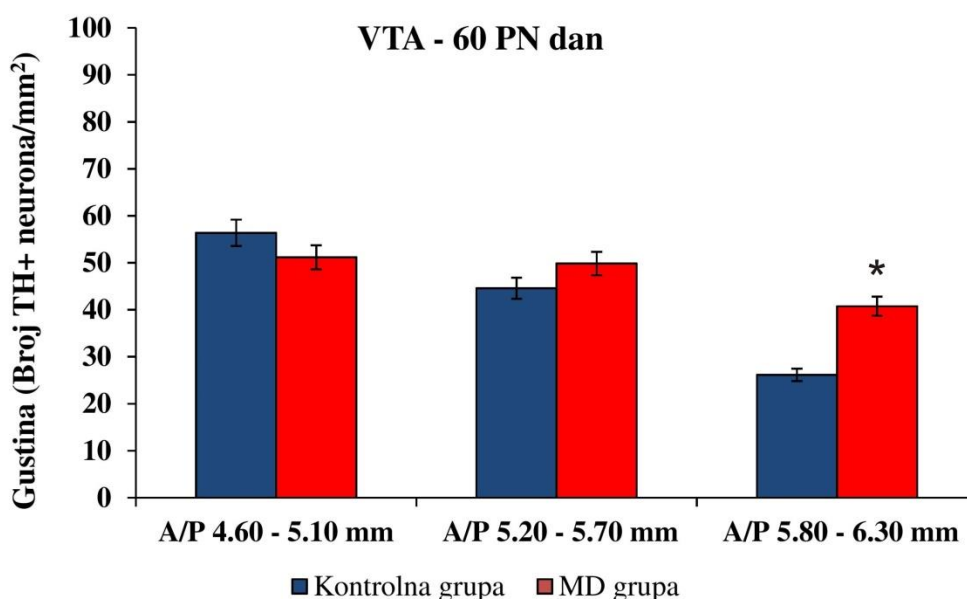
Gustina TH+ neurona u pars compacta substantiae nigrae je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se u koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu uočava statistički značajno povećanje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 19.).



Grafikon 19. Grafički prikaz gustine TH+ neurona pars compacta substantiae nigrae u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata nismo dobili statički značajnu razliku u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ) i A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje gustine TH+ neurona 1.59 x ( $p = 0.03$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

### 8.3. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u ventralnoj tegmentalnoj arei kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Gustina TH+ neurona u ventralnom tegmentalnom području je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se u koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu uočava statistički značajno povećanje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 20.).



Grafikon 20. Grafički prikaz gustine TH+ neurona ventralnog tegmentalnog područja u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata nismo dobili statistički značajnu razliku u sledećim stereotaksičkim koordinatama : A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ) i A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu ( $p > 0.05$ ). U koordinati A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje gustine TH+ neurona 1.58 x ( $p = 0.03$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja

A/P 4.60 – 5.10 mm u odnosu na bregmu	A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu	A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu
<b>Gustina (Broj TH+ neurona/mm<sup>2</sup>)</b>		
<hr/>		
SNpr		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	39 ± 5.79	Kontrolna grupa
MD grupa	43 ± 2.90	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	30 ± 3.94	Kontrolna grupa
MD grupa	<b>48 ± 3.10</b>	MD grupa
SNpc		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	75 ± 9.50	Kontrolna grupa
MD grupa	69 ± 8.30	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	61 ± 3.40	Kontrolna grupa
MD grupa	59 ± 3.70	MD grupa
VTA		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	65 ± 6.80	Kontrolna grupa
MD grupa	61 ± 5.60	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	56 ± 3.20	Kontrolna grupa
MD grupa	51 ± 3.30	MD grupa
SNpr		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	42 ± 4.53	Kontrolna grupa
MD grupa	44 ± 4.03	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	31 ± 2.85	Kontrolna grupa
MD grupa	<b>39 ± 3.80</b>	MD grupa
SNpc		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	84 ± 5.10	Kontrolna grupa
MD grupa	<b>59 ± 3.60</b>	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	50 ± 2.10	Kontrolna grupa
MD grupa	56 ± 4.60	MD grupa
VTA		
<i>PN35 dan</i>		<i>PN35 dan</i>
Kontrolna grupa	62 ± 7.30	Kontrolna grupa
MD grupa	<b>44 ± 2.50</b>	MD grupa
<i>PN60 dan</i>		<i>PN60 dan</i>
Kontrolna grupa	45 ± 1.60	Kontrolna grupa
MD grupa	50 ± 2.70	MD grupa

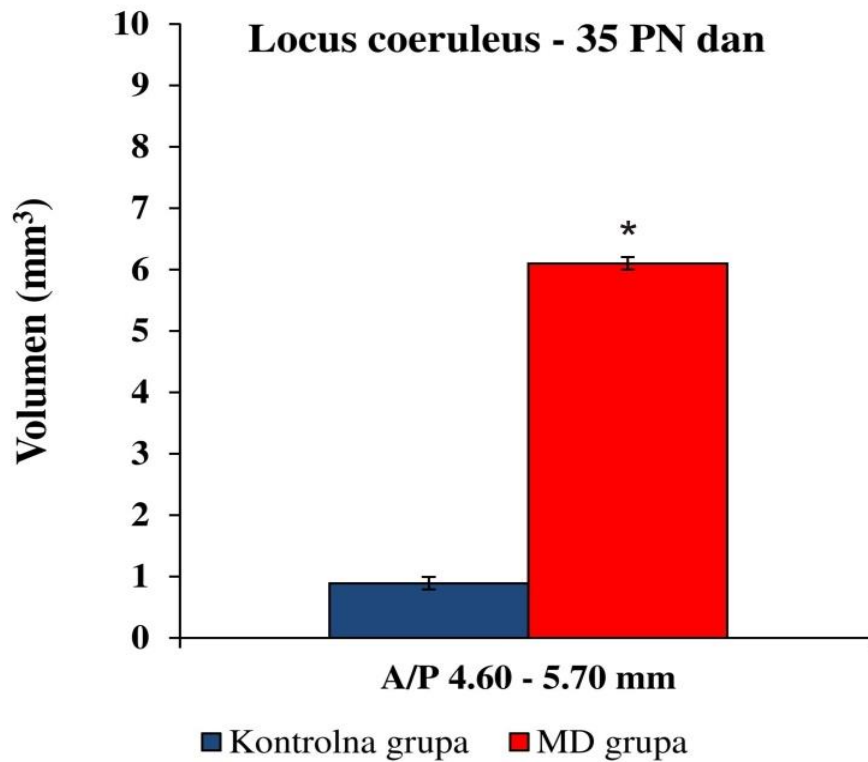
Tabela 34. Gustina (Broj TH+ neurona/mm<sup>2</sup>) u SNpr, SNpc i VTA kod adolescentnih (PN35) i adultnih životinja (PN60). Svi rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± SEM. Boldovani brojevi prikazuju statistički značajne vrednosti p ≤ 0.05

## 9. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen locusa coeruleusa kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

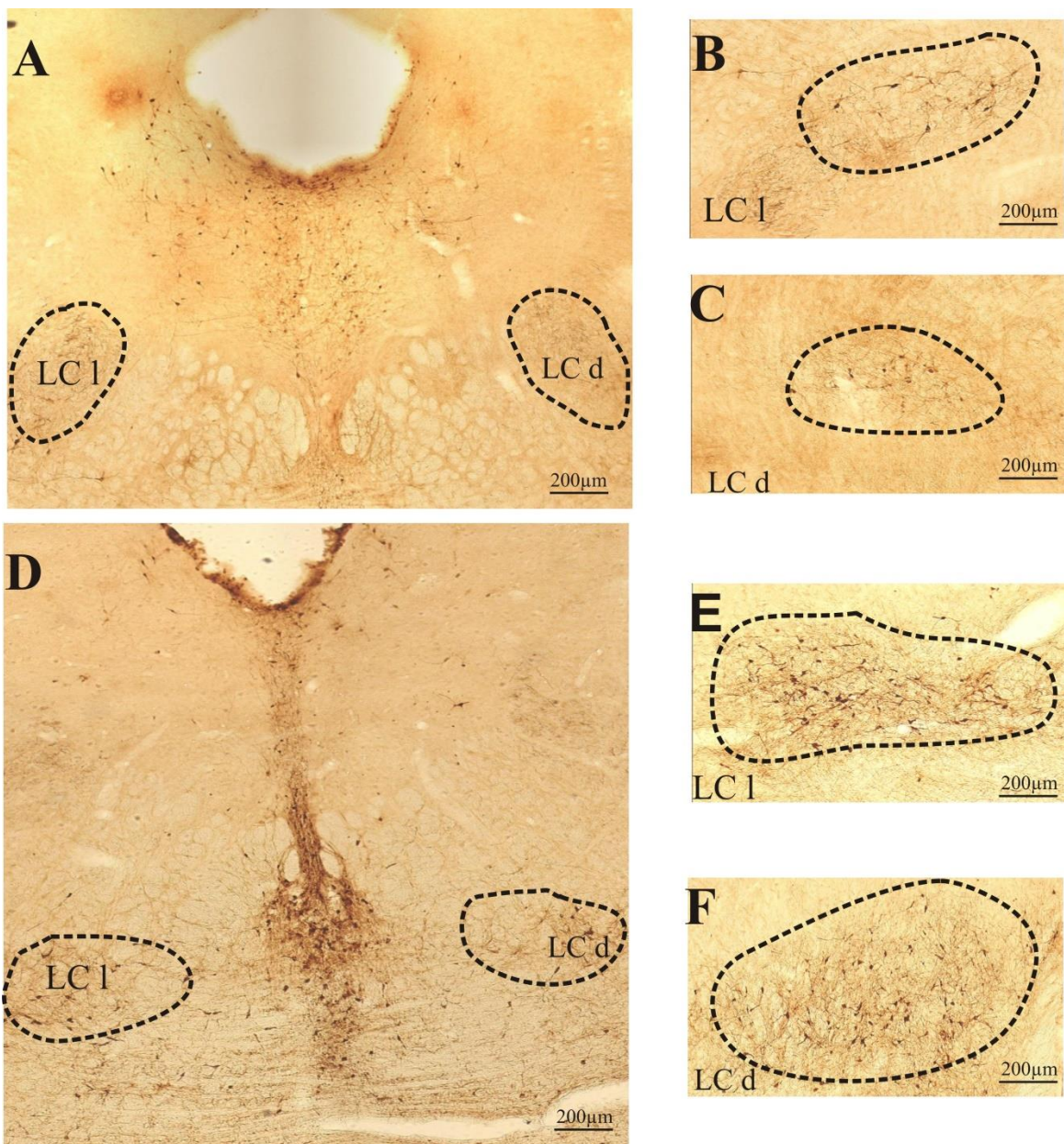
Volumen locusa coeruleusa je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 35.) i grafički (Grafikon 21.).

Tabela 35. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena locusa coeruleusa u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Volumen (mm <sup>3</sup> ) locusa coeruleusa 35 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.96	MD1	5.43
K2	0.86	MD2	6.87
K3	0.91	MD3	6.12
K4	0.87	MD4	6.37
K5	0.86	MD5	5.70
Srednja vrednost ±SD	0.89 ± 0.04	Srednja vrednost ±SD	6.10 ± 0.56



Grafikon 21. Volumen locusa coeruleusa u koordinati A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod kontrolnih i maternalno depriviranih adolescentnih pacova. U MD grupi se uočava povećanje volumena 6.85 x ( $p = 0.0002$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



Slika 17. Mikrografija načinjena Olympus CH2 (Japan) mikroskopom, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka). A- prikaz imunohistohemijskog bojenja TH+ neurona u locusu coeruleusu kontrolnih adolescentnih pacova na uveličanju 10x ( LC1- locus coeruleus levo; LCd- locus coeruleus desno). D - prikaz imunohistohemijskog bojenja TH+ neurona u locusu coeruleusu maternalno depriviranih adolescentnih pacova na uveličanju 10x. Mikrografije B-C prikazuju locus coeruleus kontrolnih adolescentnih pacova, dok mikrografije E-F prikazuju locus coeruleus maternalno depriviranih adolescentnih na uveličanju od 20x. Isprekidanim linijama je prikazan volumen ispitivanih struktura.

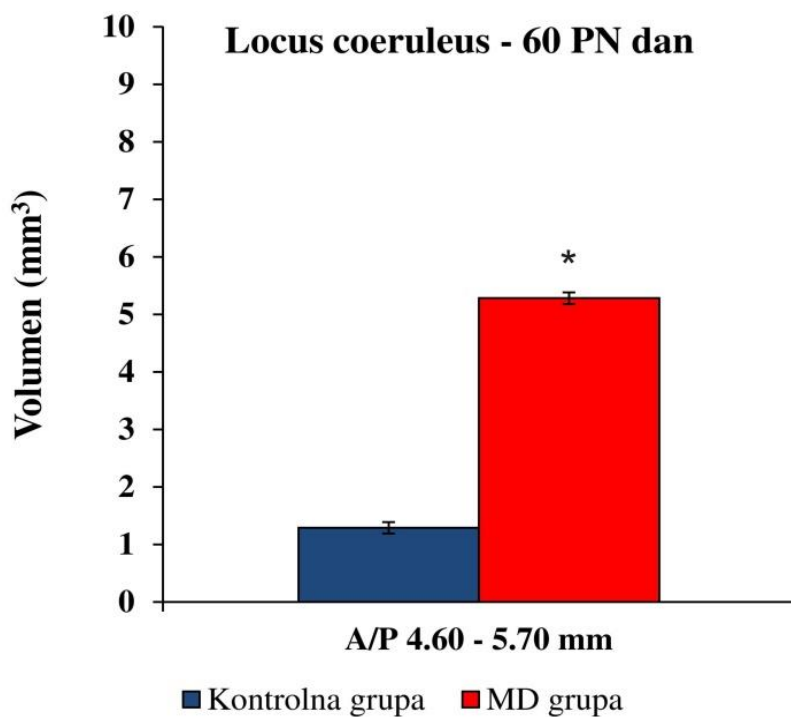
## 10. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na volumen locusa coeruleusa kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Volumen locusa coeruleusa je meren bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost dve ispitivane strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje volumena ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 36.) i grafički (Grafikon 22.).

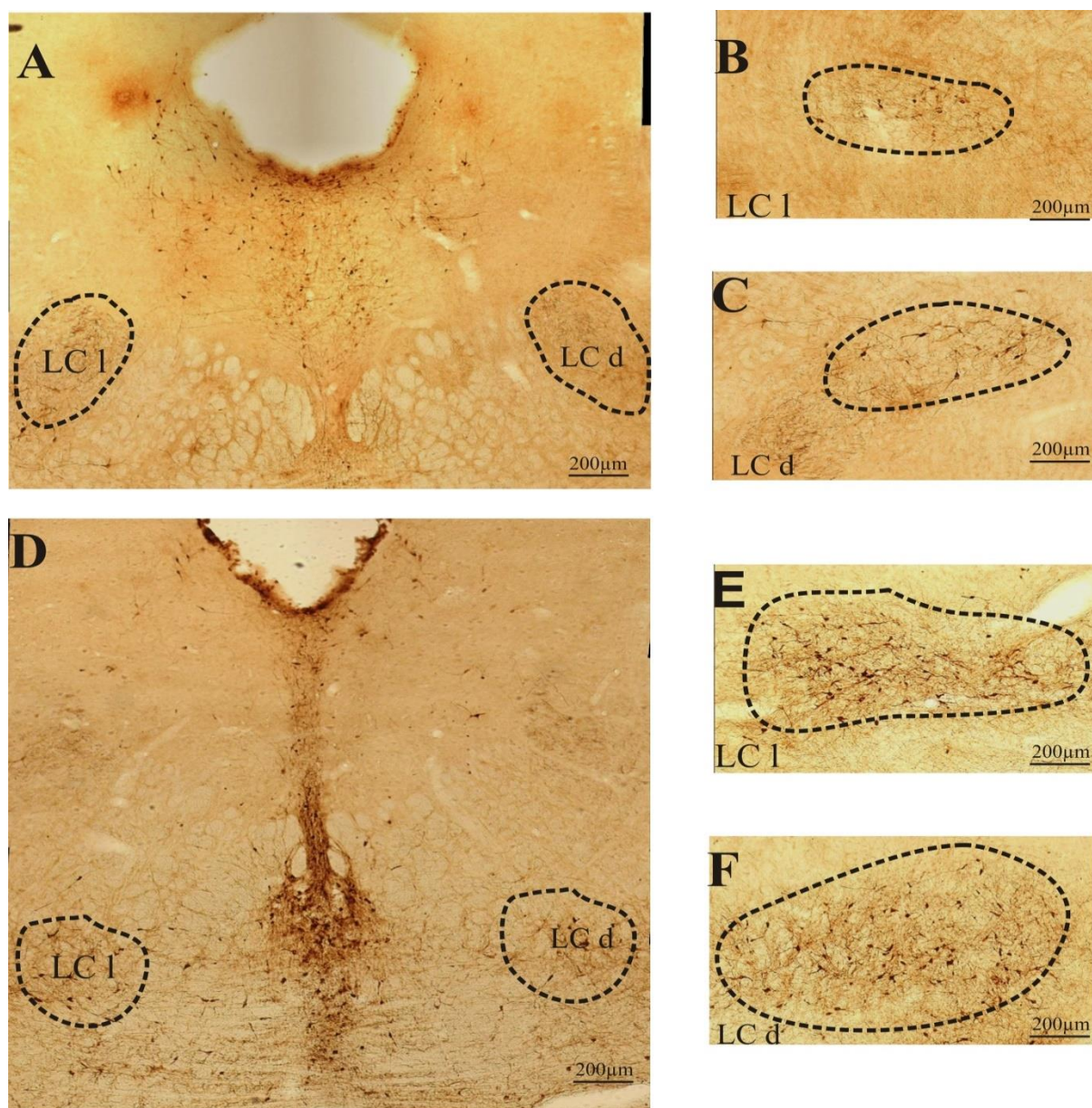
Tabela 36. Tabelarni prikaz dobijenih rezultata volumena locusa coeruleusa u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova .

Volumen (mm <sup>3</sup> ) locusa coeruleusa 60 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	0.91	MD1	4.62
K2	1.58	MD2	4.29
K3	1.46	MD3	5.52
K4	0.98	MD4	6.28
K5	1.50	MD5	5.67
Srednja vrednost ±SD	1.29 ± 0.32	Srednja vrednost ±SD	5.28 ± 0.81





Grafikon 22. Volumen locusa coeruleusa u koordinati A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod kontrolnih i maternalno depriviranih adultnih pacova. U MD grupi se uočava povećanje volumena 4.09 x ( $p = 0.0003$ ) \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



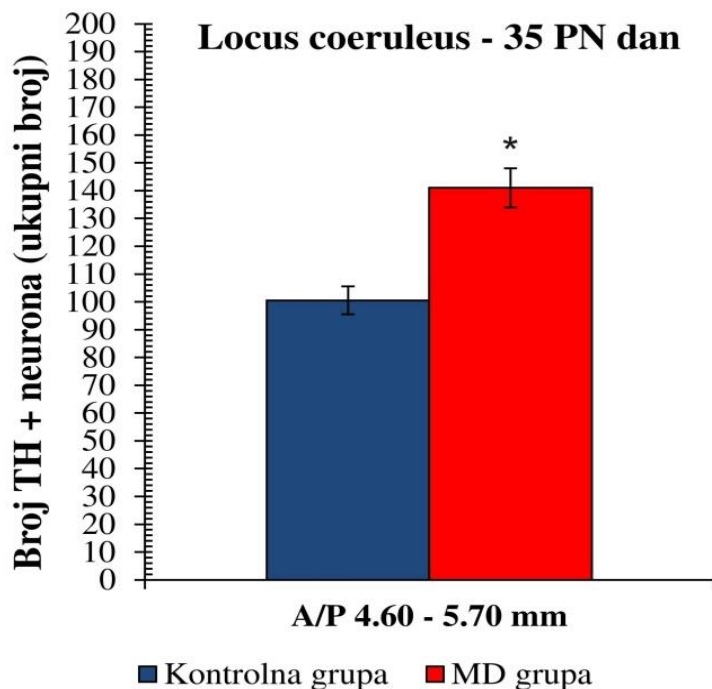
Slika 18. Mikrografija načinjena Olympus CH2 (Japan) mikroskopom, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka). A- prikaz imunohistohemijskog bojenja TH+ neurona u locusu coeruleusu kontrolnih adultnih pacova na uveličanju 10x ( LC I- locus coeruleus levo; LC d- locus coeruleus desno). D - prikaz imunohistohemijskog bojenja TH+ neurona u locusu coeruleusu maternalno depriviranih adultnih pacova na uveličanju 10x. Mikrografije B-C prikazuju locus coeruleus kontrolnih adultnih pacova, dok mikrografije E-F prikazuju locus coeruleus maternalno depriviranih adultnih na uveličanju od 20x. Isprekidanim linijama je prikazan volumen ispitivanih struktura.

## 11. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Broj TH+ neurona locus-a coeruleus-a je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kraniometrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 37.) i grafički (grafikon 23.)

Tabela 37. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adolescentnih pacova.

Broj TH+ neurona u locusu coeruleusu			
35 postnatalni dan			
A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	113	MD1	123
K2	129	MD2	161.5
K3	63.5	MD3	160.5
K4	82.5	MD4	128.5
K5	114.5	MD5	131.5
Srednja vrednost ±SD	100.5±26.73	Srednja vrednost ±SD	141±18.51



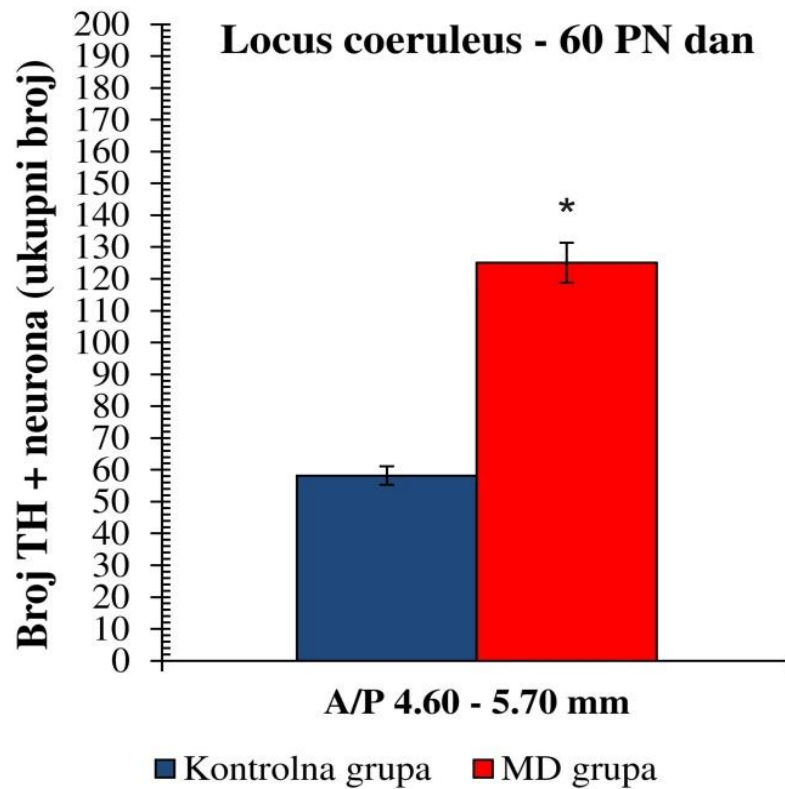
Grafikon 23. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na kraniometrijsku tačku bregma kod kontrolnih i maternalno depriviranih adolescentnih pacova. U MD grupi se uočava povećanje broj TH+ neurona 1.40 x ( $p = 0.03$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## 12. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na ukupni broj TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

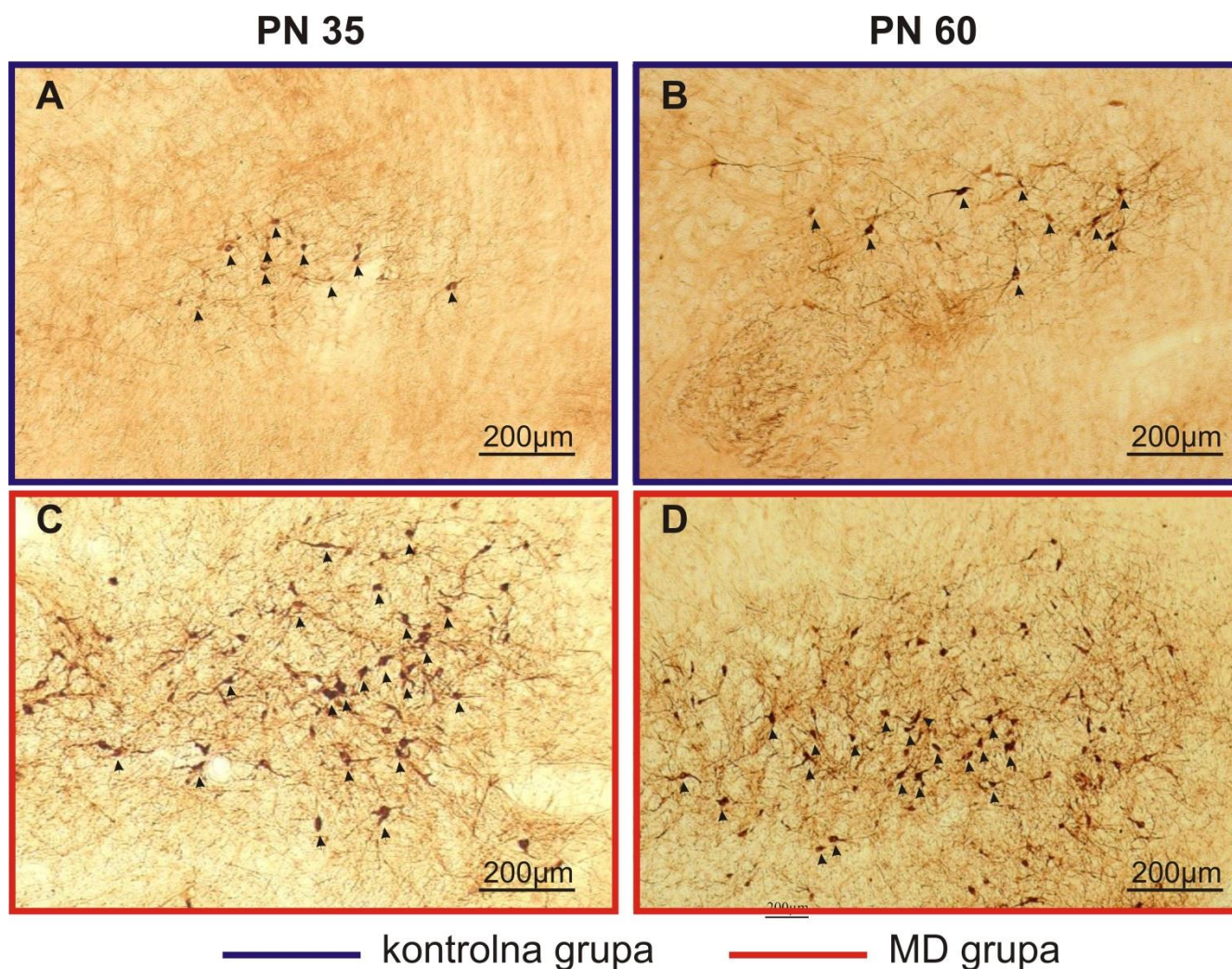
Broj TH+ neurona locus-a coeruleus-a je brojan bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. Sve vrednosti su prikazane kao srednja vrednost obe strane mozga u odgovarajućim koordinatama u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma. Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno povećanje broja TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (Tabela 38.) i grafički (Grafikon 24.).

Tabela 38. Tabelarni prikaz dobijenih brojeva TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na bregmu kod adultnih pacova.

Broj TH+ neurona u locusu coeruleusu 60 postnatalni dan A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu			
Kontrolna grupa životinja (K)		MD grupa životinja (MD)	
K1	43.5	MD1	113
K2	68.5	MD2	137.5
K3	57	MD3	133.5
K4	62.5	MD4	114.5
K5	59.5	MD5	127
Srednja vrednost $\pm$ SD	58.2 $\pm$ 9.27	Srednja vrednost $\pm$ SD	125.1 $\pm$ 11.03



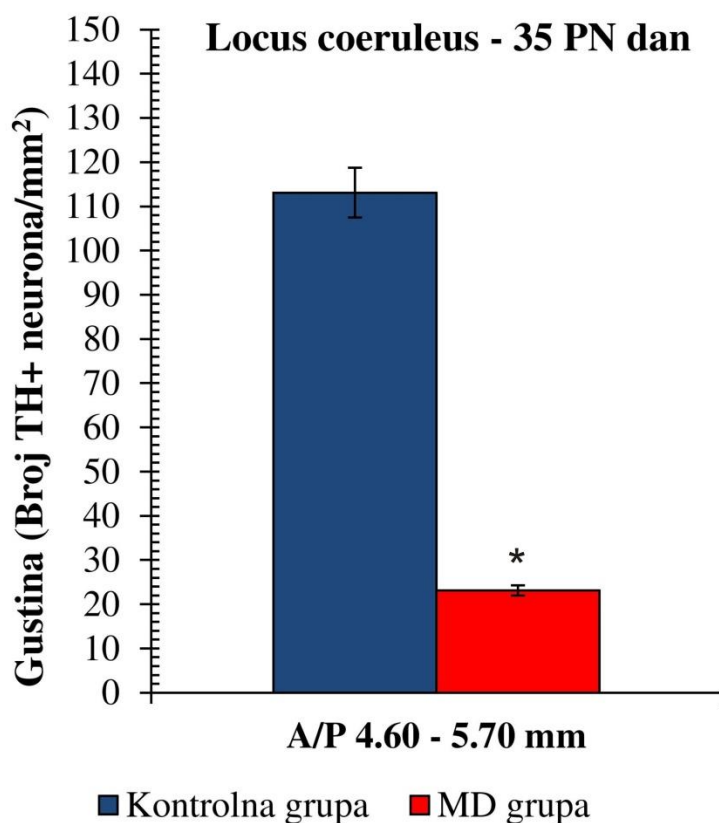
Grafikon 24. Prikaz srednje vrednosti broja TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u A/P 4.60 – 5.70 mm koordinati u odnosu na kranimetrijsku tačku bregma kod kontrolnih i maternalno depriviranih adultnih pacova. U MD grupi se uočava povećanje broj TH+ neurona 2.15 x ( $p = 0.00003$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



Slika 19. Mikrografija načinjena Olympus CH2 (Japan) mikroskopom, opremljenim kamerom (Karl Zeiss, Nemačka). Mikrografije A-B prikazuju broj TH+ neurona u locusu coeruleusu kontrolnih adolescentnih (A) i adultnih (B) pacova na uveličanju 20 x ; Mikrografije C-D prikazuju broj TH+ neurona u locusu coeruleusu maternalno depriviranih adolescentnih (C) i adultnih (D) pacova na uveličanju od 20x. Crnim strelicama su označena tela TH+ neurona.

### 13. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adolescentnih pacova – 35 postnatalni dan

Gustina TH+ neurona u locus-u coeruleus-u je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. U kontrolnoj grupi životinja srednja vrednost gustine TH+ neurona iznosila je  $113.09 \pm 14.13$ , dok je gustina TH+ neurona u MD grupi životinja iznosila  $23.13 \pm 2.16$ . Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno smanjenje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 25.).

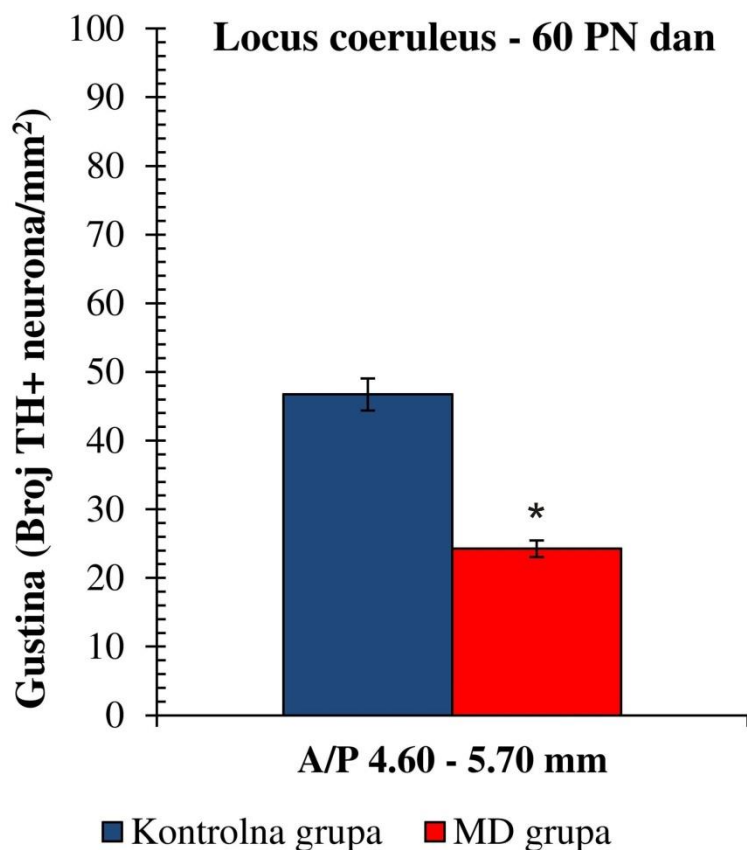


Grafikon 25. Grafički prikaz gustine TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata dobili smo statistički značajno smanjenje gustine TH+ neurona kod maternalno depriviranih životinja 4.89 x u stereotaksičkoj koordinati A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu ( $p = 0.002$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.



#### 14. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije na gustinu TH+ neurona u locus-u coeruleus-u kod adultnih pacova – 60 postnatalni dan

Gustina TH+ neurona u locus-u coeruleus-u je merena bilateralno kod kontrolnih i maternalno depriviranih životinja. U kontrolnoj grupi životinja srednja vrednost gustine TH+ neurona iznosila je  $46.73 \pm 4.54$ , dok je gustina TH+ neurona u MD grupi životinja iznosila  $24.27 \pm 2.24$ . Primenom studentovog t-testa za dva nezavisna uzorka, kod maternalno depriviranih životinja se uočava statistički značajno smanjenje u gustini TH+ neurona ( $p < 0.05$ ). Dobijeni rezultati su prikazani grafički (grafikon 26.).



Grafikon 26. Grafički prikaz gustine TH+ neurona u locus-u coeruleus-u u dve ispitivane grupe životinja. Analizom dobijenih rezultata dobili smo statički značajno smanjenje gustine TH+ neurona kod maternalno depriviranih životinja 1.89 x u stereotaksičkoj koordinati A/P 4.60 – 5.70 mm u odnosu na bregmu ( $p = 0.01$ ). \* je označena statistički značajna razlika između dve ispitivane grupe životinja.

## **DISKUSIJA**

Ova studija bila je fokusirana na efekte stresa prouzrokovane maternalnom deprivacijom u ranom životnom dobu na volumen dopaminergičkih jedara kao i broj i gustinu dopaminergičkih neurona unutar tih jedara. Ključni rezultati ovog istraživanja su da adolescentni i adultni mozak pacova podleže promenama u ispitivanim parametrima koje su prouzrokovane stresom u ranom životnom periodu, praćenim povišenjem nivoa kortikosterona u krvi. Takođe, rezultati ove studije koreliraju sa rezultatima Hancock-a i Grant-a, koji su pokazali da je nakon odvajanja majke od mladunaca u različitim periodima razvoja unos hrane opao (Hancock i Grant, 2009). Konkretno, maternalna deprivacija povećava volumen svih dopaminergičkih jedara i ukupan broj dopaminergičkih neurona u njima u periodu adolescencije i odrasle dobi. Postnatalno odvajanje mladunaca od majke prouzrokovalo je nepravilan razvoj dopaminergičkog sistema, za koji se pretpostavlja da igra ulogu u patologiji psihijatrijskih bolesti (Malnic i sar., 1971). Ograničavanjem kontakta između majke i mladunaca, što uključuje uskraćivanje hrane u fazi razdvajanja, narušava se reakcija prilagođavanja u toku SHRP-a i dovodi do abnormalnog funkcionisanja ose hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlezda (HPA) i pojačanog odgovora na stres (Champagne i sar., 2009). Prethodne studije su pokazale da perinatalni tretman glukokortikoidima može trajno izmeniti bazalni nivo hormona i nivo stresa izazvanih cirkulišućim glukokortikoidima kod eksperimentalnih životinja, a dokumentovano je da endogeni nadbubrežni steroidi povećavaju aktivnost dopamina u striatumu (McArthur i sar., 2005). Gubitak telesne težine kod pacova odgovara povišenju ekspresije glasnika RNK (mRNA) koji prenosi hormon koji oslobađa kortikotropin-oslobađajući (CRH) hormon (Kawaguchi i sar., 2005) i porastu adrenokortikotropnog hormona (ACTH) (Vong i sar., 1993) i kortikosterona (Burden i sar., 1993). Metoda odvajanja majke od mladunaca korišćena u ovom istraživanju razlikuje se od one koja se koristi u većini drugih studija zabeleženih u literaturi, ali su dobijeni rezultati u skladu sa ishodom studije koju su sprovedli Chocyk i sar. (2011). Oni su dokazali privremeni porast broja TH + neurona u SNpr kod adolescentnih pacova, kao i porast broja TH + neurona u VTA kod odraslih pacova, bez promena u volumenu ispitivanih struktura. U zavisnosti od stadijuma razvoja mozga, postoji nekoliko mogućih objašnjenja za povećani broj TH-pozitivnih neurona u SN i VTA. Zbog zavisnosti nivoa perikarijalnih TH proteina od brzine aksonskog transporta, moguće je da TH nije prisutan u ćelijskom telu ili je prisutan u velikim količinama (Nestler, 1992). Konstitutivne i trajne promene u ekspresiji TH + neurona u srednjem mozgu su moguće jer se u SN i VTA ekspresije *Nurr1* (*nuclear receptor 1*) i *Pitk3* transkripcionih faktora javljaju tokom pre- i postnatalnog perioda razvoja mozga i odgovorne su za preživljavanje dopaminergičkih neurona (Ojeda i sar., 2003; Korotkova i sar., 2005; Katunar i sar., 2009, 2010). Takođe, postoji mogućnost da je razlika uzrokovana ekspresijom TH iz ćelija koje se razlikuju od tipičnih dopaminergičkih ćelija u SN i VTA (Ugrumov, 2009). Naši

rezultati su pokazali porast gustine TH + neurona kod adultnih pacova u ispitivanom stereotaksičnom opsegu SNpr, SNpc i VTA u A / P koordinati 5.80–6.30 mm u odnosu na bregmu. Ovi rezultati su u korelaciji sa istraživanjem sprovedenim na pacovima soja Wistar, koje su izveli Chocyk i sar. (2011) i pokazali da je MD u periodu adolescencije dovela do povećanja broja i gustine TH + neurona u SNpr, ali ne i u VTA. Rezultati dobijeni u našoj studiji slični su studiji koju su sproveli McArthur i sar. (2007), koji (u farmakološkom smislu) mogu imitirati efekte stresa. De Souza i sar. (2018) pokazali su da je stres u ranom životnom dobu izazvan tokom tamne faze ciklusa osvetljenosti povećao ekspresiju gena dopaminergičkih receptora Drda i Drd2a. Ovaj efekat je primećen samo kod muških pacova. Rezimirajući, ekspresija dopaminskih receptora snažno je regulisana averzivnim ranim životnim iskustvima. Zapravo, ovi efekti mogu imati polnu specifičnu razvojnu putanju. Poznato je da MD remeti delovanje HPA ose i utiče na nivo cirkulišućih glukokortikoida (GC) (de Kloet i sar., 2005). GC, delujući preko glukokortikoidnih i mineralokortikoidnih receptora široko eksprimiranih u mozgu, utiču na transkripciju specifičnih gena ili vrše mnoge negenomske efekte. GC imaju značajnu ulogu u regulaciji razvoja i sazrevanja mozga. Neravnoteža izazvana stresom u ranom životnom dobu na nivoima GC može programirati moždane funkcije, uključujući neurotransmisiju dopamina, za kasniji život (de Kloet i sar., 2005). Zapravo, ne možemo u potpunosti isključiti mogućnost da do povećanja ukupnog broja TH-pozitivnih neurona dolazi usled neurogeneze u određenom trenutku tokom ontogeneze, iako je ovaj koncept vrlo sporan (Shan i sar., 2006; Zhao i Janson Lang, 2009). Naučno je dokazano da ispitivane grupe životinja pokazuju povećanu osetljivost na dopaminergičke agense kao što su amfetamin i apomorfin, povećan nivo adenokortikotropnog hormona (*ACTH*) i kortikosterona, kao i smanjenu latentnu inhibiciju (Zimmerberg i sar., 1992; Ellenbroek i sar., 1995; Roots i sar., 1996; Lieberman i sar., 1987). Dakle, pacovi koji su doživeli stres prouzrokovan MD, pokazuju dugoročne efekte u neuroendokrinom odgovoru na stres, kogniciji, morfologiji bazalnih ganglija, regulaciji emocija i ponašanja (Sanchez i sar., 2001).

Generalno, maternalna deprivacija ostvaruje različite uticaje na svaku regiju mozga. Najizraženije posledice zabeležene su u SN i VTA mozga preadolescentnih pacova (*Chochyk i sar., 2011*). Takođe, MD utiče na sazrevanje procesa u pomenutim područjima kao što su ispoljavanje adhezivnih molekula na površini neurona, zatim na ćelijsku proliferaciju i na apoptozu neophodnu za rast i razvoj (*Chochyk i sar., 2010, 2011*). Povećana aktivnost dopamina u VTA zabeležena je u odgovoru na akutni stres, ali se jako malo zna o dugotrajnim posledicama stresnog iskustva (Deutch i sar., 1985; Kaneyuki i sar. 1991).

Unutar područja ventralne tegmentalne area-e nalaze se *D2-like* dopaminski receptori koji su zapravo autoreceptori i inhibiraju protok impulsa, sintezu neurotransmitera i njihovo oslobađanje u mezokortikolimbicke dopaminske neurone koji su osetljivi na brojne stresore. MD kao eksperimentalni uzrok stresa dovodi do promena u aktivnosti *D2-like* receptora što dovodi do smanjene autoinhibicije ćelijske aktivnosti (Iarotskiĭ i sar.,1992; Finlay i sar.,1997; Horger i sar., 1996). Dopaminergički neuroni se projektuju u prefrontalni korteks gde šalju toničku inhibiciju glutaminergičkim piramidalnim neuronima. Ako se onemogućí inhibišuća aktivnost aferentnih dopaminergičkih neurona, onda se povećava glutaminergička aktivnost piramidalnih neurona. Kao rezultat takve aktivnost, *nc.accumbens* postaje hiperreagujući na stresna iskustva (Deutch i sar., 1985; McClure i sar. 2004). Takođe, postoje razmatranja o mogućim kompenzatornim mehanizmima koji održavaju optimalnu sintezu dopamina i signalizaciju nakon izlaganja stresu (Antonopoulos i sar., 2002).

Promene u ekspresiji TH + neurona srednjeg mozga moguće su zbog toga što se u SN i VTA javlja ekspresija *Nurr1* i *Pitk3* transkripcionih faktora u prenatalnom i postnatalnom periodu razvoja mozga. Ti transkripcioni faktori su odgovorni za preživljavanje dopaminergičkih neurona (Ojeda i sar., 2003; Korotkova i sar., 2005; Katunar i sar., 2009, 2010). S toga, možemo da poredimo razlike u volumenu dopaminergičkih struktura mozga između kontrolne grupe i MD grupe pacova. Naša studija je pokazala da morfometrijska analiza dopaminergičkih neurona u oblasti VTA između kontrolne i eksperimentalne grupe adolescentnih i adultnih životinja pokazuje značajne statističke razlike koje se manifestuju povećanjem volumena VTA kod MD životinja.

Postoji nekoliko mogućih objašnjenja za razlike u volumenu VTA između dve ispitivane grupe životinja zavisno o životnoj dobi pacova. Jedna teorija govori o tome da je kod mladih jedinki nivo tirozin-hidroksilaze (TH) u dopaminergičkim ćelijama ispod nivoa koji može da se detektuje imunohistohemijskim metodama. Sazrevanjem, neuroni mogu povećati ekspresiju TH, samim tim je i prisustvo TH u neuronima uočljivo (Iarotskiĭ i sar.,1992; Björklund i sar., 2007).

Ova studija je pokazala da se volumen mozga pacova nekoliko puta poveća tokom prenatalnog i postnatalnog razvoja. Postnatalno povećanje volumena mozga se verovatno postiže deobom glija ćelija i povećanjem arborizacije dendrita. U određenim regionima mozga, postnatalna generacija neurona koji se ne eliminišu konstitutivnom razvojnom apoptozom može objasniti postnatalno povećanje volumena mozga (Insel, 1995; Morilak i sar., 1995). Trenutni rezultati pružaju jasne dokaze o povećanju volumena mozga, posebno u SNpc, SNpr i VTA u oba životna perioda kod ispitivanih grupa životinja. Moguće je da se MD ne meša sa kritičnim elementima razvoja koji su odgovorni za konačnu veličinu ovih struktura srednjeg mozga. Klinički eksperimenti zasnovani na identifikaciji moždanih struktura

kompjuterizovanom tomografijom i magnetnom rezonancom pokazali su da se hipokampus, prefrontalni korteks i amigdaloidni kompleks podvrgavaju selektivnom smanjenju volumena kao doživotne posledice ranih averzivnih iskustava (Driessen i sar., 2000; Teicher i sar., 2003; Treadway i sar., 2009). Sve veći dokazi sugerisu da glijalni gubitak i neuronska atrofija mogu doprineti ovom smanjenju volumena i delimično biti u osnovi kognitivnih disfunkcija koje su često povezane sa neuropsihijatrijskim poremećajima povezanim sa stresom (Manji i sar., 2000; Banasr i Duman, 2008). Rezultati studije koju su sprovedi Chocyk i saradnici (2011) pružili su dokaze da izloženost stresu tokom ranog postnatalnog perioda nije uticala na volumene SNpc, SNpr i VTA tokom nekoliko faza ontogeneze (na PND 15, 35 i 70). Međutim, pokazani su suprotni rezultati za ranu primenu deksametazona, koji (u farmakološkom smislu) može imitirati efekte stresa (McArthur i sar., 2007). Otkriveno je da je prenatalna izloženost deksametazonu prouzrokovala povećanje zapremine VTA (kod odraslih mužjaka i ženki pacova) i SNpc (kod odraslih mužjaka), dok je kod odraslih ženki primećeno smanjenje zapremine SNpc. Štaviše, neonatalni (na PND 1-7) tretman deksametazonom izazvao je smanjenje zapremine SNpc kod odraslih ženki (McArthur et al., 2007). Pretpostavka je da su razlike i sličnosti u rezultatima navedenih studija i ove studije prouzrokovane drugačijim modelima maternalne deprivacije.

Možemo samo nagađati o funkcionalnim implikacijama razlika u broju TH imunoreaktivnih neurona srednjeg mozga između životinja izloženih ranom životnom stresu i kontrola. Povećanje broja imunoreaktivnih TH ćelija u SNpc, SNpr i VTA adolescentnih i adultnih pacova, kako je primećeno u našoj studiji, sugerise da bi to moglo uticati na nepravilan razvoj dopaminergičke inervacije u nigrostriatalnom i mezokortikolimbickom sistemu. U nigrostriatalnom sistemu, nepreciznost dopaminergičke inervacije može ometati programiranje motoričkih funkcija, što se javlja u prvih nekoliko postnatalnih nedelja kod pacova (Antonopoulos et i sar., 2002). Nedavno je otkriveno da čak i delimična denervacija dopamina, koja uzrokuje blagi motorički deficit, ima dubok uticaj na dugoročnu potencijaciju zavisnu od NMDA u striatumu. NMDA leži u osnovi funkcionalne sinaptičke plastičnosti koja je kritična (između ostalih funkcija) za programiranje veština ponašanja (Paille i sar., 2010). U skladu sa ovim podacima, pokazano je da MD uzrokuje određene blage deficite u motoričkoj koordinaciji kod adolescentnih pacova (Meskuita i sar., 2007; Farkas i sar., 2009). Štaviše, MD povećava toksične efekte 6-hidroksidopamina kod adultnih pacova (Pienaar i sar., 2008; Mabandla i Russell, 2010). Posle dopaminske denervacije, MD pacovi su pokazali izraženija oštećenja u performansama motornih testova od normalno uzgajanih životinja. Ovi rezultati sugerisu da stres u ranom životnom periodu može povećati osetljivost dopaminergičkog sistema na stresne reakcije koje se dogode u kasnijem periodu života.

Vredi napomenuti da nigrostriatalni dopaminergički sistem ima specifičnu odeljensku organizaciju za svoje aksonske terminale (striatal patch (sloj) - matriks pregrade) (Gerfen, 2004). Odeljci patch-matriks terminala u striatumu sastoje se od izrazito regulisanih (na ulaznom i izlaznom nivou) neuronskih kola, koja su osnova za pravilno funkcionisanje bazalnih ganglija. Dopaminski neuroni koji se nalaze u SNpr projektuju se prvenstveno u odeljak striatalnog flastera, dok oni u SNpc daju ulaz i u odeljke flastera i matriksa. Populacija dopaminskih neurona u VTA, koja se projektuje na ventralni striatum (nucleus accumbens), daje ulaz u odeljak matriksa (Gerfen, 2004). Dakle, MD može uticati na funkciju različitih neuronskih sistema bazalnih ganglija. Bazalne ganglije nisu uključene samo u jednostavne motoričke funkcije već i u mnoštvo presudnih složenih ponašanja, uključujući: istraživačko ponašanje, odabir akcije, akciono kapiranje, učenje zasnovano na nagrađivanju, motoričku pripremu i ciljno orijentisano ponašanje (Chakravarthi i sar., 2010). Štaviše, nedavna istraživanja su pokazala da oštećenja funkcije bazalnih ganglija mogu biti povezana ne samo sa neurološkim poremećajima već i sa neuropsihijatrijskim poremećajima (shizofrenija, opsesivno-kompulzivni poremećaj) (Chakravarthi i sar., 2010; Haines i Mallet, 2010; Perez-Costas i sar. ., 2010). S druge strane, ranjivost TH imunoreaktivnih neurona u VTA na stres u ranom životnom periodu može biti povezana sa raspoloženjem, kognitivnim poremećajima i zavisnošću. Svi ovi poremećaji pokazuju aberacije u funkciji i strukturi mezokortikolimbickog dopaminergičkog sistema (Schultz, 2007). Velika količina podataka iz mnogih laboratorija pokazuje da MD životinje pokazuju poremećene obrasce dopaminergičkih odgovora u ponašanju (Hall i sar., 1999; Matthevs i sar., 1999; Ploj i sar., 2003; Brake i sar., 2004; Kosten i sar., 2005; Moffett i sar., 2007; Rodrigues i sar., 2011). Dakle, naši rezultati doprinose proširenju znanja o uticaju MD na poremećaje koji leže u osnovi dopaminergičke neurotransmisije izazvane stresom u ranom životu.

Sve je više dokaza da stresna iskustva u ranim fazama života utiču na razvoj mozga, a kao posledica toga povećavaju rizik za neke psihijatrijske poremećaje, poput depresije, anksioznosti, poremećaja ličnosti, zloupotrebe droga i shizofrenije (Weber i sar., 2008) . Međutim, znanje je još uvek ograničeno o tačnim mehanizmima kojima stres u ranom životu vrši svoj štetni uticaj na razvoj i sazrevanje centralnog nervnog sistema. U poslednje vreme mnogo pažnje je usmereno na važnu ulogu molekula adhezije neuronskih ćelija (NCAM) u pravilnom funkcionisanju mozga tokom svih faza razvoja i tokom odrasle dobi (Ditlevsen i sar., 2008). NCAM proteini pripadaju imunoglobulinskoj superporodici molekula ćelijske adhezije koji su izraženi u nervnom sistemu kičmenjaka kao tri glavne izoforme različitih molekulskih težina (tj. NCAM-120, NCAM-140 i NCAM-180). Sve ove izoforme su proizvodi alternativnog spajanja jednog NCAM transkripta i obično prolaze kroz dalju posttranslacionu

modifikaciju; na primer, izoforme se mogu modifikovati polisialilacijom (PSANCAM) (Ditlevsen i sar., 2008, Rutishauser i sar., 1996). NCAM su uključeni u mnoge važne procese, uključujući rast neurona, fascikulaciju i sprovođenje aksona, sinaptičku stabilizaciju i plastičnost (Ditlevsen i sar., 2008), kao i učenje i pamćenje (Mackowiak i sar., 2010). Većina gore navedenih funkcija rezultat je aktivacije specifičnih intracelularnih signalnih puteva koji prate procese adhezije ćelija - ćelija i ćelija - vanćelijski matriks posredovani NCAM. Međutim, neka istraživanja upućuju na druge funkcije NCAM-a koje nisu povezane sa adhezijom. Utvrđeno je da NCAM reguliše proces internalizacije dopaminskih D2 receptora, uključujući signalnu i lokomotornu aktivnost povezanu sa dopaminom kod miševa (Xiao i sar., 2009). Štaviše, otkriveno je da NCAM posreduje u efektima neurotrofičnog faktora izvedenog iz glija ćelijske linije ((GDNF), specifičnog neurotrofina za dopaminske neurone srednjeg mozga) na preživljavanje dopaminskih neurona tokom razvoja i promet dopamina u adultnoj dobi (Cao i sar., 2008; Chao i sar., 2003).

Postoje mnoge publikacije koje navode da promena u izražavanju NCAM može biti u osnovi patomehanizama nekih mentalnih poremećaja. U kliničkim studijama je pokazano da pacijenti sa bipolarnim poremećajima raspoloženja i shizofrenijom imaju povećane nivoe NCAM u likvoru (rastvorljivi NCAM fragmenti), hipokampusu i kori (transmembranski NCAM) (Sandi i sar., 2007). Pored toga, u studijama na životinjama otkriveno je da NCAM nokaut miševi pokazuju povećanje volumena lateralne komore (morfološki znak shizofrenije) (Wood i sar., 1998) i nekoliko abnormalnosti u ponašanju, poput pojačane agresije i anksioznosti (Stork i sar., 2000). Štaviše, transgeni miševi sa prekomernom ekspresijom rastvorljivog oblika NCAM pokazuju nekoliko funkcionalnih i anatomskih disfunkcija koje podsećaju na tipične simptome za shizofreniju, kao što su deficiti u inhibiciji predimpulsa (PPI). Takođe, pokazuju pojačanu reakciju na dopaminergičke agoniste i anatomske deficite u GABA-ergičkim kertridžima u medijalnom prefrontalnom korteksu (mPFC) (Pillai-Nair i sar., 2005). Dokazano je da hronično lečenje kortikosteronom (Sandi i sar., 1999) i primena različitih vrsta hroničnog stresa kod odraslih životinja uzrokuju smanjenje ekspresije NCAM u hipokampusu i mPFC (Sandi i sar., 2007); ovo smanjenje zavisi od težine stresa koji se primenjuje. Gore pomenute regije mozga su reprezentativne za neuronsku plastičnost zasnovanu na NCAM-u, čija je neispravnost vezana za patogenezu depresije (Sandi i sar., 2007) i deficita pamćenja / učenja (Aisa i sar., 2009).

Prema istraživanju koje su sprovedi Chocyk i saradnici (2010) pokazano je da stres u ranom životnom periodu utiče na nivo NCAM u dopaminergičkim strukturama srednjeg mozga, to jest u SN ženki pacova (na PND 15 i 35) i na VTA mužjaka pacova (na PND 15). Njihovi rezultati ukazuju na to da MD putem NCAM proteina može imati značajan uticaj na dopaminergičke neurone i njihovu funkciju.



Iako mehanizam interakcije može biti stvar nagađanja, vredi naglasiti ulogu GDNF-a (glial cell line – derived neurotrophic factor), koji se smatra specifičnim neurotrofičnim faktorom za dopaminergičke neurone srednjeg mozga (Cao i sar., 2008; Chao i sar., 2003). Nedavno je otkriveno da je NCAM signalni receptor za GDNF (Cao i sar., 2008; Chao i sar., 2003). Korišćenjem anti-NCAM antitela koja blokiraju funkcije, pokazano je da NCAM posreduje u efektima GDNF na preživljavanje dopaminergičkih neurona, rast, promet dopamina i lokomotornu aktivnost pacova (Chao i sar., 2003). S druge strane, utvrđeno je da subhronična primena GDNF na pars compacta SN povećava ekspresiju (Chao i sar., 2003). Druge studije su otkrile da su miševi sa nedostatkom NCAM pokazali smanjenje broja TH+ dopaminergičkih neurona u SN i pokazali pojačanu ekspresiju (Xiao i sar., 2009). Stoga, otkrića (koja pokazuju da je MD smanjila ekspresiju NCAM u SN, VTA i mPFC kod maloletnih i adolescentnih životinja, kao i kod mPFC odraslih) snažno ukazuju na to da stres u ranom životu može ometati sazrevanje dopaminergičkog sistema, što posledično dovodi do abnormalnosti u njegovoj funkciji tokom čitave ontogeneze. Dakle, sadašnji rezultati mogu dalje podržati hipotezu o stresno osetljivim periodima tokom razvoja (SHRP) i njihovoj ulozi u patogenezi nekih mentalnih poremećaja, u skladu sa kliničkim studijama koje pokazuju da stresna iskustva u ranom životu mogu povećati rizik od depresije, anksioznosti, zloupotrebe droga i shizofrenije i ubrzati manifestacije gore pomenutih bolesti (Andersen i sar., 2008; Weber i sar., 2008). Rezultati ove disertacije su u korelaciji sa navedenim istraživanjima, s tim što prvi ukazuju na dugoročan i trajan efekat MD na dopaminergički sistem i detaljnu imunohistohemijsku analizu TH+ neurona, kako u broju, tako i gustini.

Locus coeruleus (LC) označava jasnu ograničenu grupu neurona koji predstavljaju glavni izvor noradrenalina (NA) u organizmu. Njegovim oslobađanjem i vezivanjem za odgovarajuće receptore ciljnih organa, dolazi do aktivacije simpatičkog nervnog sistema (Liu i sar. 2017). Ovaj neurotransmiter reguliše aktivnost moždanih struktura, utiče na regulaciju spavanja i sna i dovodi do vazokonstrikcije i midrijaze. Pored toga utiče na rad creva, ubrzanje srčanog rada i na raspoloženje (Guyton i sar., 2019). Kortikotropni hormon (CRH) deluje na LC dovodeći do ekstracelularnog povećanja NA u toku stresa. Različite studije pokazuju da CRH deluje na morfologiju neurona povećavajući rast dendrita, a samim tim i verovatnoću stvaranja veza sa aferentnim vlaknima (Jerome i sar., 2010).

Kod adultnih pacova, akutni stres uzrokuje povećanje NA i ekspresiju gena tirozin hidroksilaze (TH). Dent i saradnici (2001) su ispitivali stresni odgovor na LC-NA osovinu kod kontrolne i maternalno deprivirane grupe pacova. Posle izotonične injekcije fiziološkog rastvora (*stresora*) ispitivana je iRNK tirozin hidroksilaze (TH) i iRNK glukokortikoidnih receptora (GR) (Dent i sar., 2001). Rezultati ove studije su pokazali značajno povećanje iRNK TH izazvane stresom u maternalnoj depriviranoj grupi 12-

og postnatalnog dana dok je u kontrolnoj grupi iRNK TH pokazala značajno povećanje tek 18-og postnatalnog dana. Vrednost iRNK GR nije promenjena 12-og postnatalnog dana, dok je 18-og postnatalnog dana kontrolna grupa pokazala smanjenu ekspresiju u odnosu na maternalno depriviranu grupu. Ovi podaci ukazuju na to da tokom ontogeneze LC-NA sistem reaguje na akutni stress (Dent i sar., 2001).

Posmatranjem parametara našeg istraživanja možemo uočiti da postoji statistički značajna razlika kod adolescentnih i adultnih životinja u volumenu, broju TH+ neurona i gustini TH+ neurona u LC u kontrolnoj i maternalno depriviranoj grupi. Poređenjem dve ispitivane grupe u oba termina životne dobi, adolescenciji i adultnom periodu, kod MD grupe životinja uočavamo povećanje volumena LC i povećanje ukupnog broja TH+ neurona u LC, koje je praćeno smanjenjem gustine TH+ neurona LC. Elisa i saradnici (2017) su analizirali efekte maternalne deprivacije na broj neurona, ćelijsku proliferaciju i apoptozu u LC pacova starih 11 dana koristeći imunohistohemiju za NeuN (neuronal nuclear protein) i BrdU (*bromodeoxyuridine*) i elektronsku mikroskopiju. Na osnovu njihovih rezultata, dokazano je smanjenje broja neurona u LC, ali ne i značajna promena u broju apoptotičnih ćelija u maternalnoj depriviranoj grupi pacova. Broj proliferativnih neurona je bio znatno niži kod kontrolne grupe pacova u poređenju sa maternalno depriviranom grupom. Njihove analize ukazuju na to da različiti ishodi stresa u neonatalom periodu mogu dovesti do različitih modifikacija LC (Elisa i sar., 2017). Životinje izložene ranom odvajanju od majke pokazuju povećanu osetljivost na hemijske, termičke i mehaničke stimuluse u adolescentnom dobu. Fabiana i saradnici (2021) su svojom analizom noradrenergičkih neurona i serotonergičkih neurona zaključili da maternalna deprivacija povećava osetljivost na bol, smanjenjem aktivnosti serotonergičkih neurona u *ncc. raphes* i noradrenergičkih neurona u LC.

Oskar i saradnici (2019) su u svojoj studiji definisali tipove sinapsi koje formiraju arginin-vazopresin pozitivna (AVP+) vlakna sa neuronima LC koristeći imunohistohemiju zajedno sa konfokalnom i transmisionom elektronskom mikroskopijom (TEM). Njihova analiza je pokazala da stres u neonatalnom periodu dovodi do značajnog porasta gustine LC-AVP+ vlakna koja potiču iz hipotalamičkih magnocelularnih neurona. Takođe, ovi autori navode da projekcije AVP+ vlakana u LC i u eferentnim delovima mozga, kao što su hipokampus i prefrontalni korteks, utiču na homeostatske odgovore koji modifikuju plastičnost neurona.

Postoje studije koje pokazuju da povećanje nivoa NA smanjuje upalne procese i pruža neuroprotekciju, stimulacijom adrenergičkih receptora deluje na makrofage i imunski odgovor. NA i njegovi metaboliti su hidrofilni molekuli koji sprečavaju lipidnu peroksidaciju membrane i proizvodnju slobodnih radikala smanjujući oksidativni stress (Eduardo i sar., 2018). Mnogobrojne studije pokazuju

da postoji važna korelacija noradrenergičkog i dopaminergičkog sistema. Noradrenergički neuroni iz LC deluju na dopaminergičke neurone u srednjem mozgu, slanjem impulsa u SN pars compacta (SNpc), ventralnu tegmentalnu areu (VTA) i striatum (Meng i sar., 2018). Takođe, dopaminska beta-hidroksilaza i adrenergički receptori su otkriveni na većini dopaminergičkih neurona srednjeg mozga, uključujući VTA i striatum. Takva usko povezana anatomska korelacija, dovodi do mogućnosti da noradrenergički sistem igra bitnu ulogu u modulaciji i aktivnosti dopaminergičkih neurona (Meng i sar., 2018).

Razne analize pokazuju da selektivna lezija LC neurona povećava aktivnost pucanja dopaminergičkih neurona i njihovu aktivnost u VTA što sugerise složenost regulacije dopaminergičke neuronske aktivnosti. Većina noradrenergičkih i dopaminergičkih grupa neurona nisu u direktnoj sinaptičkoj vezi, što je dokazano ultrastrukturnom studijom (Meng 2018). Iako je stvarna funkcija glija ćelija između ovih neurona nepoznata, takva glijalna odvajanja mogu pružiti selektivnu fizičku barijeru za prenos između nekih noradrenergičkih terminala i dopaminergičkih dendrita, omogućavajući da jednu subpopulaciju dendrita modulira NA, ali ne i drugu. Slična ultrastrukturna inervacija između noradrenergičkih terminala i astrocita se nalazi u korteksu i timusu (Meng 2018).

Prihvaćeno je da postoji bliska veza između noradrenergičkih i dopaminergičkih neurona u mozgu, kao što su modulacija sistema LC-NA u prenosu dopamina. Promene u LC-noradrenergičkom sistemu povezane su sa zdravim starenjem i neuropsihijatrijskim poremećajima, uključujući Parkinsonovu bolest, Alchajmerovu bolest i depresiju (Liu i sar., 2017). Noradrenergički neuroni u LC su značajno smanjeni kod osoba obolelih od Parkinsonove bolesti, sa pretpostavkom da se gubitkom neurona LC može povećati osetljivost dopaminergičkih neurona na oštećenje (Szot i sar., 2012).

Stres je nezaobilazan deo današnjice i ljudskog postojanja, a mnoge studije su dokazale da maternalna deprivacija, odnosno perinatalni model stresa može dovesti do trajnih promena u karakteristikama ose hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlezda i/ili ose hipotalamus-hipofiza-štitasta žlezda koja deluje na razvoj depresivnog i anksioznog ponašanja u adultnom dobu. Na osnovu naših rezultata koji pokazuju da postoji statistički značajna razlika u ispitivanim parametrima između kontrolne i MD grupe životinja, buduća istraživanja bi trebala da se fokusiraju na uzroke razlika u tim parametrima u LC kod eksperimentalnih životinja koje su bile izložene stresu tokom SHRP-a (*eng. stress hyporesponsive period*).

Ovo je prva studija koja je pružila dokaze da rani životni stres izazvan MD sproveden devetog postnatalnog dana (PN9) kod mužjaka pacova dovodi do trajnih promena u morfološkim i biohemijskim parametrima, uključujući telesnu težinu pacova, volumen dopaminergičkih jedara, broj TH + neurona u tri različita stereotaksična opsega kroz ukupnu rostro-kaudalnu dimenziju i gustinu TH + neurona u istim

opsezima. Uočene promene mogu olakšati razumevanje kako stres u ranom životnom dobu može povećati tendenciju ka neurološkim poremećajima, shizofreniji i poremećaju hiperaktivnosti sa deficitom pažnje (ADHD). Poznato je da su ovi poremećaji povezani sa nepravilnim funkcijama u dopaminergičkoj neurotransmisiji, koje mogu biti posredovane nepravilnim sazrevanjem, što može uključivati volumetrijske promene u dopaminergičkim jedrima, kao i promene u broju i gustini TH+ neurona.

## **ZAKLJUČCI**

U skladu sa postavljenim ciljevima ovog istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci :

1. Stres prouzrokovan maternalnom deprivacijom devetog postantalnog dana dovodi do povećanja koncentracije kortikosterona u krvi kod adolescentnih i adultnih pacova.
2. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do smanjenja telesne težine pacova u juvenilnom, adolescentnom i adultnom periodu života.
3. Rani stres kao što je maternalna deprivacija, dovodi do povećanja volumena *substantia nigra-e* kod adolescentnih i adultnih pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama.
4. Ovaj model stresa dovodi do povećanja volumena ventralnog tegmentalnog područja (VTA) kod adolescentnih i adultnih pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama.
5. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi i do povećanja volumena *locus coeruleus-a* kod adolescentnih i adultnih pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama.
6. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi i do povećanja broja TH+ neurona *substantia nigra-e* kod adolescentnih i adultnih pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama.
7. Rani stres prouzrokuje povećanje broja TH+ neurona u ventralnom tegmentalnom području adolescentnih pacova i taj rezultat perzistira i kod adultnih pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama.
8. Ovaj model stresa dovodi i do povećanja broja TH+ neurona u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama *locus coeruleus-a* adolescentnih i adultnih pacova.
9. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do smanjenja gustine TH+ neurona u SN pc adolescentnih pacova u A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu.
10. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do smanjenja gustine TH+ neurona u VTA adolescentnih pacova u A/P 5.20 – 5.70 mm u odnosu na bregmu.
11. Ovaj model stresa dovodi do povećanja gustine TH+ neurona u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama SNpr kod adultnih pacova.
12. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do povećanja gustine TH+ neurona u SN pc u A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu.
13. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do povećanja gustine TH+ neurona u VTA u A/P 5.80 – 6.30 mm u odnosu na bregmu.
14. Dugotrajni uticaj maternalne deprivacije dovodi do smanjenja gustine TH+ neurona LC u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama adolescentnih i adultnih pacova.

Na osnovu dobijenih rezultata ovih istraživanja, možemo zaključiti da maternalna deprivacija predstavlja važan faktor koji dovodi do promena u dopaminergičkim strukturama mozga pacova u ispitivanim stereotaksičkim koordinatama u odnosu na kraniometrijsku tačku bregma. Ove promene, uslovljene maternalnom deprivacijom mogu doprineti sagledavanju mehanizama nastanka psihijatrijskih poremećaja u koje ubrajamo i shizofreniju.

# **LITERATURA**



Adams RD, Victor M. Principles of Neurology. McGraw-Hill Information Services Compan, New York, 993, pp 617-692.

Afifi, A.K., and Bergman, R.A. (2005). Functional neuroanatomy, Text and atlas. 2nd 7 edition. New York: McGraw-Hill Health Professional Division. ISBN: 978-0071408127

Aguzzi A, Sigurdson C, Heikenwaelder M. Molecular mechanisms of prion pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2008;3:11-40. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.154326. PMID: 18233951.

Aisa B, Elizalde N, Tordera R, Lasheras B, Del Río J, Ramírez MJ. Effects of neonatal stress on markers of synaptic plasticity in the hippocampus: implications for spatial memory. *Hippocampus.* 2009 Dec;19(12):1222-31. doi: 10.1002/hipo.20586. PMID: 19309038.

Aksić M, Radonjić NV, Aleksić D, Jevtić G, Marković B, Petronijević N, Radonjić V, Filipović B. Long-term effects of the maternal deprivation on the volume and number of neurons in the rat neocortex and hippocampus. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2013;73(3):394-403. PMID: 24129488.

Aleksić D, Aksić M, Radonjić NV, Jovanović A, Marković B, Petronijević N, Radonjić V, Mališ M, Filipović B. Long-term Effects of Maternal Deprivation on the Volume, Number and Size of Neurons in the Amygdala and Nucleus Accumbens of Rats. *Psychiatr Danub.* 2016 Sep;28(3):211-219. PMID: 27658829.

Andersen SL, Teicher MH. Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. *Trends Neurosci.* 2008 Apr;31(4):183-91. doi: 10.1016/j.tins.2008.01.004. Epub 2008 Mar 10. PMID: 18329735.

Angrist B, Lee HK, Gershon S. The antagonism of amphetamine-induced symptomatology by a neuroleptic. *Am J Psychiatry.* 1974 Jul;131(7):817-9. doi: 10.1176/ajp.131.7.817. PMID: 4600629.

Antonopoulos J, Dori I, Dinopoulos A, Chiotelli M, Parnavelas JG. Postnatal development of the dopaminergic system of the striatum in the rat. *Neuroscience.* 2002;110(2):245-56. doi: 10.1016/s0306-4522(01)00575-9. PMID: 11958867.

Audet MA, Doucet G, Oleskevich S, Descarries L. Quantified regional and laminar distribution of the noradrenaline innervation in the anterior half of the adult rat cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 1988 Aug 15;274(3):307-18. doi: 10.1002/cne.902740302. PMID: 2464617.

BAN TA, LOHRENZ JJ, LEHMANN HE. Observations on the action of Sernyl-a new psychotropic drug. *Can Psychiatr Assoc J.* 1961 Jun;6:150-7. doi: 10.1177/070674376100600307. PMID: 13686510.

Banasr M, Duman RS. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry.* 2008 Nov 15;64(10):863-70. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.06.008. Epub 2008 Jul 17. PMID: 18639237; PMCID: PMC2709733.

Bari BA, Chokshi V, Schmidt K. Locus coeruleus-norepinephrine: basic functions and insights into Parkinson's disease. *Neural Regen Res.* 2020 Jun;15(6):1006-1013. doi: 10.4103/1673-5374.270297. PMID: 31823870; PMCID: PMC7034292.

Benarroch EE. Locus coeruleus. *Cell Tissue Res.* 2018 Jul;373(1):221-232. doi: 10.1007/s00441-017-2649-1. Epub 2017 Jul 7. PMID: 28687925.

Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev.* 2003 Apr;42(1):33-84. doi: 10.1016/s0165-0173(03)00143-7. PMID: 12668290.

Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007 May;30(5):194-202. doi: 10.1016/j.tins.2007.03.006. Epub 2007 Apr 3. PMID: 17408759.

BOWLBY J. Maternal care and mental health. *Bull World Health Organ.* 1951;3(3):355-533. PMID: 14821768; PMCID: PMC2554008.

Brake WG, Zhang TY, Diorio J, Meaney MJ, Gratton A. Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *Eur J Neurosci.* 2004 Apr;19(7):1863-74. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03286.x. PMID: 15078560.

Burden VR, White BD, Dean RG, Martin RJ. Activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis is elevated in rats with activity-based anorexia. *J Nutr.* 1993 Jul;123(7):1217-25. doi: 10.1093/jn/123.7.1217. PMID: 8320563.

Cao JP, Wang HJ, Yu JK, Yang H, Xiao CH, Gao DS. Involvement of NCAM in the effects of GDNF on the neurite outgrowth in the dopamine neurons. *Neurosci Res.* 2008 Aug;61(4):390-7. doi: 10.1016/j.neures.2008.04.008. Epub 2008 Apr 26. PMID: 18524405.

CARLSSON A, LINDQVIST M. EFFECT OF CHLORPROMAZINE OR HALOPERIDOL ON FORMATION OF 3-METHOXYTYRAMINE AND NORMETANEPHRINE IN MOUSE BRAIN. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh).* 1963;20:140-4. doi: 10.1111/j.1600-0773.1963.tb01730.x. PMID: 14060771.

Carpenter, M. B. (1996). *Core text of neuroanatomy*. Baltimore: Williams & Wilkins.

Chadman KK, Yang M, Crawley JN. Criteria for validating mouse models of psychiatric diseases. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2009 Jan 5;150B(1):1-11. doi: 10.1002/ajmg.b.30777. PMID: 18484083; PMCID: PMC2914616.

Chakravarthy VS, Joseph D, Bapi RS. What do the basal ganglia do? A modeling perspective. *Biol Cybern*. 2010 Sep;103(3):237-53. doi: 10.1007/s00422-010-0401-y. Epub 2010 Jul 20. PMID: 20644953.

Champagne DL, de Kloet ER, Joëls M. Fundamental aspects of the impact of glucocorticoids on the (immature) brain. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009 Jun;14(3):136-42. doi: 10.1016/j.siny.2008.11.006. Epub 2008 Dec 14. PMID: 19073374.

Chao CC, Ma YL, Chu KY, Lee EH. Integrin alphav and NCAM mediate the effects of GDNF on DA neuron survival, outgrowth, DA turnover and motor activity in rats. *Neurobiol Aging*. 2003 Jan-Feb;24(1):105-16. doi: 10.1016/s0197-4580(02)00047-7. PMID: 12493556.

Chocyk A, Dudys D, Przyborowska A, Maćkowiak M, Wędzony K. Impact of maternal separation on neural cell adhesion molecules expression in dopaminergic brain regions of juvenile, adolescent and adult rats. *Pharmacol Rep*. 2010 Nov-Dec;62(6):1218-24. doi: 10.1016/s1734-1140(10)70385-6. PMID: 21273681.

Chocyk A, Dudys D, Przyborowska A, Majcher I, Maćkowiak M, Wędzony K. Maternal separation affects the number, proliferation and apoptosis of glia cells in the substantia nigra and ventral tegmental area of juvenile rats. *Neuroscience*. 2011 Jan 26;173:1-18. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.11.037. Epub 2010 Nov 23. PMID: 21108994.

Chocyk A, Przyborowska A, Dudys D, Majcher I, Maćkowiak M, Wędzony K. The impact of maternal separation on the number of tyrosine hydroxylase-expressing midbrain neurons during different stages of ontogenesis. *Neuroscience*. 2011 May 19;182:43-61. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.03.008. Epub 2011 Mar 29. PMID: 21396433.

Connell, P (1958) *Maudsley Monograph, 5*, Oxford Univ Press, New York, USA.

Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*. 1991 Nov;148(11):1474-86. doi: 10.1176/ajp.148.11.1474. PMID: 1681750.

de Kloet ER, Sibug RM, Helmerhorst FM, Schmidt MV. Stress, genes and the mechanism of programming the brain for later life. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005 Apr;29(2):271-81. doi: 10.1016/j.neubiorev.2004.10.008. Epub 2004 Dec 9. Erratum in: *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(4):576. Schmidt, Mathias [corrected to Schmidt, Mathias V]. PMID: 15811498.

de Souza JA, da Silva MC, de Matos RJB, do Amaral Almeida LC, Beltrão LC, de Souza FL, de Castro RM, de Souza SL. Pre-weaning maternal separation increases eating later in life in male and female offspring, but increases brainstem dopamine receptor 1a and 2a only in males. *Appetite.* 2018 Apr 1;123:114-119. doi: 10.1016/j.appet.2017.12.004. Epub 2017 Dec 8. PMID: 29229410.

DELAY J, DENIKER P, HARL JM. Utilisation en thérapeutique psychiatrique d'une phénothiazine d'action centrale élective (4560 RP) [Therapeutic use in psychiatry of phenothiazine of central elective action (4560 RP)]. *Ann Med Psychol (Paris).* 1952 Jun;110(2 1):112-7. Undetermined Language. PMID: 12986408.

Dent GW, Smith MA, Levine S. Stress-induced alterations in locus coeruleus gene expression during ontogeny. *Brain Res Dev Brain Res.* 2001 Mar 29;127(1):23-30. doi: 10.1016/s0165-3806(01)00108-0. PMID: 11287061.

Deutch AY, Tam SY, Roth RH. Footshock and conditioned stress increase 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the ventral tegmental area but not substantia nigra. *Brain Res.* 1985 Apr 29;333(1):143-6. doi: 10.1016/0006-8993(85)90134-9. PMID: 3995282.

Ditlevsen DK, Povlsen GK, Berezin V, Bock E. NCAM-induced intracellular signaling revisited. *J Neurosci Res.* 2008 Mar;86(4):727-43. doi: 10.1002/jnr.21551. PMID: 17975827.

Driessen M, Herrmann J, Stahl K, Zwaan M, Meier S, Hill A, Osterheider M, Petersen D. Magnetic resonance imaging volumes of the hippocampus and the amygdala in women with borderline personality disorder and early traumatization. *Arch Gen Psychiatry.* 2000 Dec;57(12):1115-22. doi: 10.1001/archpsyc.57.12.1115. PMID: 11115325.

Duarte EC, de Azevedo MS, Pereira GA, Fernandes MD, Lucion AB. Intervention with the mother-infant relationship reduces cell proliferation in the Locus Coeruleus of female rat pups. *Behav Neurosci.* 2017 Feb;131(1):83-91. doi: 10.1037/bne0000171. Epub 2016 Nov 28. PMID: 27893223.

Ellenbroek (1991) In: *Animal models in psychopharmacology, Adv in Pharmacological Sciences*, Ohier, B., Slangen, J. and Mos, J. (eds) Birkhauser verlag, Basel, Switzerland, p. 265.

Ellenbroek BA et al. (1998). The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia : clinical evidence and animal models. *Neuroscience research communications*, vol.22,No.3.

Ellenbroek BA, Cools AR. Animal models with construct validity for schizophrenia. *Behav Pharmacol*. 1990;1(6):469-490. PMID: 11175433.

Ellenbroek BA, Cools AR. Early maternal deprivation and prepulse inhibition: the role of the postdeprivation environment. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002 Aug;73(1):177-84. doi: 10.1016/s0091-3057(02)00794-3. PMID: 12076737.

Ellenbroek BA, Derks N, Park HJ. Early maternal deprivation retards neurodevelopment in Wistar rats. *Stress*. 2005 Dec;8(4):247-57. doi: 10.1080/10253890500404634. PMID: 16423713.

Ellenbroek BA, Geyer MA, Cools AR. The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. *J Neurosci*. 1995 Nov;15(11):7604-11. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-11-07604.1995. PMID: 7472511; PMCID: PMC6578060.

Ellenbroek, B.A., and Cools, A.R. (1995) In: *Advances in the neurobiology of schizophrenia*, Den Boer. J.A., Westenberg, H.G.M., and van Praag, H.M. (Eds), Wiley, Chichester, USA, p.89.

Farkas J, Reglodi D, Gaszner B, Szogyi D, Horvath G, Lubics A, Tamas A, Frank F, Besirevic D, Kiss P. Effects of maternal separation on the neurobehavioral development of newborn Wistar rats. *Brain Res Bull*. 2009 May 29;79(3-4):208-14. doi: 10.1016/j.brainresbull.2008.12.011. Epub 2009 Jan 15. PMID: 19150489.

Finlay JM, Zigmond MJ. The effects of stress on central dopaminergic neurons: possible clinical implications. *Neurochem Res*. 1997 Nov;22(11):1387-94. doi: 10.1023/a:1022075324164. PMID: 9355111.

Gallegos G, Salazar L, Ortiz M, Marquez W, Davis A, Sanchez S, Conner D, Schreiber HL 3rd. Simple disturbance of the dam in the neonatal period can alter haloperidol-induced catalepsy in the adult offspring. *Behav Neural Biol*. 1990 Mar;53(2):172-88. doi: 10.1016/0163-1047(90)90390-r. PMID: 2331230.

Gascon GG et al. Aminoacidopathies and Organic Acidopathies, Mitochondrial Enzyme Defects, and Other Metabolic Errors. In: Goetz CG (ed). *Textbook of Clinical Neurology*. Saunders, Elsevier, Philadelphia, 2007.

Gerfen CR (2004) Basal ganglia. In: *The rat nervous system* (Paxinos G, ed), 18, pp 455–508. San Diego: Elsevier Academic Press

German DC, Manaye KF. Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): three-dimensional reconstruction in the rat. *J Comp Neurol*. 1993 May 15;331(3):297-309. doi: 10.1002/cne.903310302. PMID: 8514911.

Gorski RA. Sexual Differentiation of the Nervous System. In: Kandel ER et al (eds): *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, 2000.

Gradinaru V, Zhang F, Ramakrishnan C, Mattis J, Prakash R, Diester I, Goshen I, Thompson KR, Deisseroth K. Molecular and cellular approaches for diversifying and extending optogenetics. *Cell*. 2010 Apr 2;141(1):154-165. doi: 10.1016/j.cell.2010.02.037. Epub 2010 Mar 18. PMID: 20303157; PMCID: PMC4160532.

Green JG, McLaughlin KA, Berglund PA, Gruber MJ, Sampson NA, Zaslavsky AM, Kessler RC. Childhood adversities and adult psychiatric disorders in the national comorbidity survey replication I: associations with first onset of DSM-IV disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2010 Feb;67(2):113-23. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.186. PMID: 20124111; PMCID: PMC2822662.

Guyton AC, Hall JE “ Medicinska fiziologija- udžbenik” Prevod sa engleskog jezika 13. Izdanje – Guyton and Hall Textbook od Medical Physiology ISBN: 978-1-4557-7005-2, (965-978) Data status 2019 Beograd.

Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW. Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*. 1999 Apr;32(1):37-43. doi: 10.1002/(SICI)1098-2396(199904)32:1<37::AID-SYN5>3.0.CO;2-4. PMID: 10188636.

Hancock S, Grant V. Early maternal separation increases symptoms of activity-based anorexia in male and female rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process*. 2009 Jul;35(3):394-406. doi: 10.1037/a0014736. PMID: 19594284.

Haynes WI, Mallet L. High-frequency stimulation of deep brain structures in obsessive-compulsive disorder: the search for a valid circuit. *Eur J Neurosci*. 2010 Oct;32(7):1118-27. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07418.x. PMID: 21039951.

Herdegen, T., & Delgado-García, J. M. (2004). *Brain damage and repair: From molecular research to clinical therapy*. Dordrecht: Kluwer Academic.

Hernández-Pérez OR, Hernández VS, Nava-Kopp AT, Barrio RA, Seifi M, Swinny JD, Eiden LE, Zhang L. A Synaptically Connected Hypothalamic Magnocellular Vasopressin-Locus Coeruleus Neuronal Circuit and Its Plasticity in Response to Emotional and Physiological Stress. *Front Neurosci*. 2019 Mar 20;13:196. doi: 10.3389/fnins.2019.00196. PMID: 30949017; PMCID: PMC6435582.

- Hervé-Minvielle A, Sara SJ. Rapid habituation of auditory responses of locus coeruleus cells in anaesthetized and awake rats. *Neuroreport*. 1995 Jul 10;6(10):1363-8. doi: 10.1097/00001756-199507100-00001. PMID: 7488725.
- Hirata H, Aston-Jones G. A novel long-latency response of locus coeruleus neurons to noxious stimuli: mediation by peripheral C-fibers. *J Neurophysiol*. 1994 May;71(5):1752-61. doi: 10.1152/jn.1994.71.5.1752. PMID: 8064346.
- Horger BA, Roth RH. The role of mesoprefrontal dopamine neurons in stress. *Crit Rev Neurobiol*. 1996;10(3-4):395-418. doi: 10.1615/critrevneurobiol.v10.i3-4.60. PMID: 8978988.
- Iarotskii SV, Nikitin AV, Berezhinskaia VV, Egorenko GG, Dolgova GV. Eksperimental'noe izuchenie rekombinantnogo insulina cheloveka [Experimental study of human recombinant insulin]. *Antibiot Khimioter*. 1992 Jul;37(7):19-25. Russian. PMID: 1456803.
- Insel TR (1995) The development of brain and behavior. In: *Psychopharmacology. The fourth generation of progress* (Bloom FE, Kupfer DJ, eds), 60, pp 683– 694. New York: Raven Press.
- Jedema HP, Sved AF, Zigmond MJ, Finlay JM. Sensitization of norepinephrine release in medial prefrontal cortex: effect of different chronic stress protocols. *Brain Res*. 1999 Jun 5;830(2):211-7. doi: 10.1016/s0006-8993(99)01369-4. PMID: 10366677.
- Kandel ER et al. (eds): *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, 2000.
- Kaneyuki H, Yokoo H, Tsuda A, Yoshida M, Mizuki Y, Yamada M, Tanaka M. Psychological stress increases dopamine turnover selectively in mesoprefrontal dopamine neurons of rats: reversal by diazepam. *Brain Res*. 1991 Aug 23;557(1-2):154-61. doi: 10.1016/0006-8993(91)90129-j. PMID: 1747750.
- Katunar MR, Saez T, Brusco A, Antonelli MC. Immunocytochemical expression of dopamine-related transcription factors Pitx3 and Nurr1 in prenatally stressed adult rats. *J Neurosci Res*. 2009 Mar;87(4):1014-22. doi: 10.1002/jnr.21911. PMID: 18951485.
- Katunar MR, Saez T, Brusco A, Antonelli MC. Ontogenetic expression of dopamine-related transcription factors and tyrosine hydroxylase in prenatally stressed rats. *Neurotox Res*. 2010 Jul;18(1):69-81. doi: 10.1007/s12640-009-9132-z. Epub 2009 Nov 20. PMID: 19936865.
- Kawaguchi M, Scott KA, Moran TH, Bi S. Dorsomedial hypothalamic corticotropin-releasing factor mediation of exercise-induced anorexia. *Am J Physiol Regul Integr Comp*

Physiol. 2005 Jun;288(6):R1800-5. doi: 10.1152/ajpregu.00805.2004. Epub 2005 Jan 27. PMID: 15677523.

Knable MB, Hyde TM, Herman MM, Carter JM, Bigelow L, Kleinman JE. Quantitative autoradiography of dopamine-D1 receptors, D2 receptors, and dopamine uptake sites in postmortem striatal specimens from schizophrenic patients. *Biol Psychiatry*. 1994 Dec 15;36(12):827-35. doi: 10.1016/0006-3223(94)90593-2. PMID: 7893846.

Korotkova TM, Ponomarenko AA, Haas HL, Sergeeva OA. Differential expression of the homeobox gene *Pitx3* in midbrain dopaminergic neurons. *Eur J Neurosci*. 2005 Sep;22(6):1287-93. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04327.x. PMID: 16190884.

Kosten TA, Zhang XY, Kehoe P. Neurochemical and behavioral responses to cocaine in adult male rats with neonatal isolation experience. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Aug;314(2):661-7. doi: 10.1124/jpet.104.081216. Epub 2005 Apr 21. PMID: 15845857.

Larsen KE, Sulzer D. Autophagy in neurons: a review. *Histol Histopathol*. 2002;17(3):897-908. doi: 10.14670/HH-17.897. PMID: 12168801.

Levitt P, Moore RY. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. *Brain Res*. 1978 Jan 13;139(2):219-31. doi: 10.1016/0006-8993(78)90925-3. PMID: 624057.

Lieberman JA, Kane JM, Alvir J. Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987;91(4):415-33. doi: 10.1007/BF00216006. PMID: 2884687.

Liu KY, Marijatta F, Hämmerer D, Acosta-Cabronero J, Düzel E, Howard RJ. Magnetic resonance imaging of the human locus coeruleus: A systematic review 2017 Dec;83:325-355. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.10.023. Epub 2017 Oct 28.

Llorente R, Villa P, Marco EM, Viveros MP. Analyzing the effects of a single episode of neonatal maternal deprivation on metabolite profiles in rat brain: a proton nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *Neuroscience*. 2012 Jan 10;201:12-9. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.11.033. Epub 2011 Nov 22. PMID: 22120435.

Maas JW, Bowden CL, Miller AL, Javors MA, Funderburg LG, Berman N, Weintraub ST. Schizophrenia, psychosis, and cerebral spinal fluid homovanillic acid concentrations. *Schizophr Bull*. 1997;23(1):147-54. doi: 10.1093/schbul/23.1.147. PMID: 9050120.

Mabandla MV, Russell VA. Voluntary exercise reduces the neurotoxic effects of 6-hydroxydopamine in maternally separated rats. *Behav Brain Res*. 2010 Jul 29;211(1):16-22. doi: 10.1016/j.bbr.2010.02.045. Epub 2010 Mar 3. PMID: 20206210; PMCID: PMC2862124.



Maćkowiak M, Chocyk A, Dudys D, Wedzony K. Activation of CB1 cannabinoid receptors impairs memory consolidation and hippocampal polysialylated neural cell adhesion molecule expression in contextual fear conditioning. *Neuroscience*. 2009 Feb 18;158(4):1708-16. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.11.037. Epub 2008 Dec 3. PMID: 19110037

Malnic G, De Mello Aires M, Giebisch G. Potassium transport across renal distal tubules during acid-base disturbances. *Am J Physiol*. 1971 Oct;221(4):1192-208. doi: 10.1152/ajplegacy.1971.221.4.1192. PMID: 5111262.

Manji HK, Moore GJ, Rajkowska G, Chen G. Neuroplasticity and cellular resilience in mood disorders. *Mol Psychiatry*. 2000 Nov;5(6):578-93. doi: 10.1038/sj.mp.4000811. PMID: 11126389.

Matthews K, Robbins TW, Everitt BJ, Caine SB. Repeated neonatal maternal separation alters intravenous cocaine self-administration in adult rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1999 Jan;141(2):123-34. doi: 10.1007/s002130050816. PMID: 9952036.

McArthur S, McHale E, Dalley JW, Buckingham JC, Gillies GE. Altered mesencephalic dopaminergic populations in adulthood as a consequence of brief perinatal glucocorticoid exposure. *J Neuroendocrinol*. 2005 Aug;17(8):475-82. doi: 10.1111/j.1365-2826.2005.01331.x. PMID: 16011483.

McArthur S, McHale E, Gillies GE. The size and distribution of midbrain dopaminergic populations are permanently altered by perinatal glucocorticoid exposure in a sex- region- and time-specific manner. *Neuropsychopharmacology*. 2007 Jul;32(7):1462-76. doi: 10.1038/sj.npp.1301277. Epub 2006 Dec 13. PMID: 17164817.

McClure WO, Ishtoyan A, Lyon M. Very mild stress of pregnant rats reduces volume and cell number in nucleus accumbens of adult offspring: some parallels to schizophrenia. *Brain Res Dev Brain Res*. 2004 Mar 22;149(1):21-8. doi: 10.1016/j.devbrainres.2003.11.015. PMID: 15013625.

Meltzer HY, Stahl SM. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophr Bull*. 1976;2(1):19-76. doi: 10.1093/schbul/2.1.19. PMID: 779020.

Mesquita AR, Pêgo JM, Summavielle T, Maciel P, Almeida OF, Sousa N. Neurodevelopment milestone abnormalities in rats exposed to stress in early life. *Neuroscience*. 2007 Jul 29;147(4):1022-33. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.007. Epub 2007 Jun 22. PMID: 17587501.

Moffett MC, Vicentic A, Kozel M, Plotsky P, Francis DD, Kuhar MJ. Maternal separation alters drug intake patterns in adulthood in rats. *Biochem Pharmacol*. 2007 Feb 1;73(3):321-30. doi: 10.1016/j.bcp.2006.08.003. Epub 2006 Sep 8. PMID: 16962564; PMCID: PMC2692348.

Morilak DA, Porteus MH, Ciaranello RD (1995) Molecular and cellular mechanisms of brain development. In: Psychopharmacology. The fourth generation of progress (Bloom FE, Kupfer DJ, eds), 59, pp 671– 681. New York: Raven Press.

Nelson KR, Mattingly M, Lee SA, Schmitt FA. Does the arousal system contribute to near death experience? *Neurology*. 2006 Apr 11;66(7):1003-9. doi: 10.1212/01.wnl.0000204296.15607.37. PMID: 16606911.

Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*. 2010 Oct;13(10):1161-9. doi: 10.1038/nn.2647. Epub 2010 Sep 27. PMID: 20877280; PMCID: PMC3750731.

Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *J Neurosci*. 1992 Jul;12(7):2439-50. doi: 10.1523/JNEUROSCI.12-07-02439.1992. Erratum in: *J Neurosci* 1992 Aug;12(8):followi. PMID: 1319476; PMCID: PMC6575828.

Nestler, EJ.; Hyman, SE.; Malenka, RC. *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. 2. McGraw-Hill; New York: 2009.

Nieuwenhuys R, Veening JG, van Domburg P. Core and paracores; some new chemoarchitectural entities in the mammalian neuraxis. *Acta Morphol Neerl Scand*. 1988-1989;26(2-3):131-63. PMID: 2908161.

Ojeda V, Fuentealba JA, Galleguillos D, Andrés ME. Rapid increase of Nurr1 expression in the substantia nigra after 6-hydroxydopamine lesion in the striatum of the rat. *J Neurosci Res*. 2003 Sep 1;73(5):686-97. doi: 10.1002/jnr.10705. PMID: 12929136.

Paillé V, Picconi B, Bagetta V, Ghiglieri V, Sgobio C, Di Filippo M, Viscomi MT, Giampà C, Fusco FR, Gardoni F, Bernardi G, Greengard P, Di Luca M, Calabresi P. Distinct levels of dopamine denervation differentially alter striatal synaptic plasticity and NMDA receptor subunit composition. *J Neurosci*. 2010 Oct 20;30(42):14182-93. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2149-10.2010. PMID: 20962239; PMCID: PMC6634757.

Perez-Costas E, Melendez-Ferro M, Roberts RC. Basal ganglia pathology in schizophrenia: dopamine connections and anomalies. *J Neurochem*. 2010 Apr;113(2):287-302. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06604.x. Epub 2010 Jan 20. PMID: 20089137; PMCID: PMC2929831.

Pienaar IS, Kellaway LA, Russell VA, Smith AD, Stein DJ, Zigmond MJ, Daniels WM. Maternal separation exaggerates the toxic effects of 6-hydroxydopamine in rats: implications for neurodegenerative disorders. *Stress*. 2008 Nov;11(6):448-56. doi: 10.1080/10253890801890721. PMID: 18609296.

Pillai-Nair N, Panicker AK, Rodriguiz RM, Gilmore KL, Demyanenko GP, Huang JZ, Wetsel WC, Maness PF. Neural cell adhesion molecule-secreting transgenic mice display abnormalities in

GABAergic interneurons and alterations in behavior. *J Neurosci*. 2005 May 4;25(18):4659-71. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0565-05.2005. PMID: 15872114; PMCID: PMC6725026.

Ploj K, Roman E, Nylander I. Long-term effects of maternal separation on ethanol intake and brain opioid and dopamine receptors in male Wistar rats. *Neuroscience*. 2003;121(3):787-99. doi: 10.1016/s0306-4522(03)00499-8. PMID: 14568037.

Prakash N, Wurst W. Development of dopaminergic neurons in the mammalian brain. *Cell Mol Life Sci*. 2006 Jan;63(2):187-206. doi: 10.1007/s00018-005-5387-6. PMID: 16389456.

Price DL. Aging of the Brain and Dementia of the Alzheimer Type. In: Kandel ER et al (eds): *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, 2000.

Puškaš L, Malobabić S, Kapor S. *Funkcionalna neuroanatomija*, Beograd 2021, DONVAS. ISBN: 9788687471528

*Rang & Dale's Pharmacology*. 8th Edition, 2003. Authors: James Ritter Rod Flower Graeme Henderson Humphrey Rang. eBook ISBN: 9780702054976

Robinson AG, Verbalis JG. Posterior Pituitary Gland. In: Larsen RP et al. (eds). *Williams Textbook of Endocrinology*. Saunders, Philadelphia, 2003.

Rodrigues AJ, Leão P, Carvalho M, Almeida OF, Sousa N. Potential programming of dopaminergic circuits by early life stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011 Mar;214(1):107-20. doi: 10.1007/s00213-010-2085-3. Epub 2010 Nov 19. PMID: 21088961.

Roshan MH, Tambo A, Pace NP. Potential Role of Caffeine in the Treatment of Parkinson's Disease. *Open Neurol J*. 2016 Jul 26;10:42-58. doi: 10.2174/1874205X01610010042. PMID: 27563362; PMCID: PMC4962431

Rots NY, Cools AR, Béroed A, Voorn P, Rostène W, de Kloet ER. Rats bred for enhanced apomorphine susceptibility have elevated tyrosine hydroxylase mRNA and dopamine D2-receptor binding sites in nigrostriatal and tuberoinfundibular dopamine systems. *Brain Res*. 1996 Feb 26;710(1-2):189-96. doi: 10.1016/0006-8993(95)01379-2. PMID: 8963658.

Rots NY, de Jong J, Workel JO, Levine S, Cools AR, De Kloet ER. Neonatal maternally deprived rats have as adults elevated basal pituitary-adrenal activity and enhanced susceptibility to apomorphine. *J Neuroendocrinol*. 1996 Jul;8(7):501-6. doi: 10.1046/j.1365-2826.1996.04843.x. PMID: 8843018.

Rutishauser U, Landmesser L. Polysialic acid in the vertebrate nervous system: a promoter of plasticity in cell-cell interactions. *Trends Neurosci.* 1996 Oct;19(10):422-7. doi: 10.1016/0166-2236(96)10041-2. PMID: 8888519.

Sánchez MM, Ladd CO, Plotsky PM. Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. *Dev Psychopathol.* 2001 Summer;13(3):419-49. doi: 10.1017/s0954579401003029. PMID: 11523842.

Sandi C, Bisaz R. A model for the involvement of neural cell adhesion molecules in stress-related mood disorders. *Neuroendocrinology.* 2007;85(3):158-76. doi: 10.1159/000101535. Epub 2007 Apr 3. PMID: 17409734.

Sandi C, Loscertales M. Opposite effects on NCAM expression in the rat frontal cortex induced by acute vs. chronic corticosterone treatments. *Brain Res.* 1999 May 15;828(1-2):127-34. doi: 10.1016/s0006-8993(99)01346-3. PMID: 10320732.

Schultz W. Multiple dopamine functions at different time courses. *Annu Rev Neurosci.* 2007;30:259-88. doi: 10.1146/annurev.neuro.28.061604.135722. PMID: 17600522.

Shan X, Chi L, Bishop M, Luo C, Lien L, Zhang Z, Liu R. Enhanced de novo neurogenesis and dopaminergic neurogenesis in the substantia nigra of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease-like mice. *Stem Cells.* 2006 May;24(5):1280-7. doi: 10.1634/stemcells.2005-0487. Epub 2006 Jan 19. PMID: 16424396; PMCID: PMC1840319.

Shepherd, G.M. (1994) *Neurobiology*. 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford.

Skinner, S. (1970). *Etymologicon linguae Anglicanae*. New York: G. Olms.

Squire, L. R., & Zigmond, M. J. (2003). *Fundamental neuroscience*. California: Academic Press.

Stork O, Welzl H, Wolfer D, Schuster T, Mantei N, Stork S, Hoyer D, Lipp H, Obata K, Schachner M. Recovery of emotional behaviour in neural cell adhesion molecule (NCAM) null mutant mice through transgenic expression of NCAM180. *Eur J Neurosci.* 2000 Sep;12(9):3291-306. doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00197.x. PMID: 10998113.

Swinny JD, O'Farrell E, Bingham BC, Piel DA, Valentino RJ, Beck SG. Neonatal rearing conditions distinctly shape locus coeruleus neuronal activity, dendritic arborization, and sensitivity to corticotrophin-releasing factor. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010 May;13(4):515-25. doi: 10.1017/S146114570999037X. Epub 2009 Aug 5. PMID: 19653930; PMCID: PMC2857591.

Szot P, Franklin A, Sikkema C, Wilkinson CW, Raskind MA. Sequential Loss of LC Noradrenergic and Dopaminergic Neurons Results in a Correlation of Dopaminergic Neuronal Number to Striatal Dopamine Concentration. *Front Pharmacol*. 2012 Oct 22;3:184. doi: 10.3389/fphar.2012.00184. PMID: 23129999; PMCID: PMC3487487.

Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM. The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003 Jan-Mar;27(1-2):33-44. doi: 10.1016/s0149-7634(03)00007-1. PMID: 12732221.

Treadway MT, Grant MM, Ding Z, Hollon SD, Gore JC, Shelton RC. Early adverse events, HPA activity and rostral anterior cingulate volume in MDD. *PLoS One*. 2009;4(3):e4887. doi: 10.1371/journal.pone.0004887. Epub 2009 Mar 26. PMID: 19325704; PMCID: PMC2656617.

Trkulja V. Neurokemijski mehanizmi u podlozi emocija. U: Boranić M et al (eds). *Psihoneuroimunologija. Povezanost imunostava sa živčanim i endokrinim sistemom*. Školska knjiga, Zagreb, 2008

Ugrumov MV. Non-dopaminergic neurons partly expressing dopaminergic phenotype: distribution in the brain, development and functional significance. *J Chem Neuroanat*. 2009 Dec;38(4):241-56. doi: 10.1016/j.jchemneu.2009.08.004. Epub 2009 Aug 19. PMID: 19698780.

van Rossum JM. The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1966 Apr;160(2):492-4. PMID: 5954044.

Vankov A, Hervé-Minvielle A, Sara SJ. Response to novelty and its rapid habituation in locus coeruleus neurons of the freely exploring rat. *Eur J Neurosci*. 1995 Jun 1;7(6):1180-7. doi: 10.1111/j.1460-9568.1995.tb01108.x. PMID: 7582091.

Vilela FC, Vieira JS, Vitor-Vieira F, Kalil-Cutti B, da Silva JRT, Giusti-Paiva A, da Silva ML. Maternal separation increases pain sensitivity by reducing the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus and noradrenergic neurons in locus coeruleus. *Neurosci Lett*. 2021 Mar 23;748:135734. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135734. Epub 2021 Feb 14. PMID: 33596470.

Waddington JL, Youssef HA. Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1987 Oct 17;295(6604):997-8. doi: 10.1136/bmj.295.6604.997-b. PMID: 3119139; PMCID: PMC1248039.

Weber K, Rockstroh B, Borgelt J, Awiszus B, Popov T, Hoffmann K, Schonauer K, Watzl H, Pröpster K. Stress load during childhood affects psychopathology in psychiatric patients. *BMC Psychiatry*. 2008 Jul 23;8:63. doi: 10.1186/1471-244X-8-63. PMID: 18651952; PMCID: PMC2500014.

Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 1987 Jul;44(7):660-9. doi: 10.1001/archpsyc.1987.01800190080012. PMID: 3606332.

Winblad B, Bucht G, Gottfries CG, Roos BE. Monoamines and monoamine metabolites in brains from demented schizophrenics. *Acta Psychiatr Scand*. 1979 Jul;60(1):17-28. doi: 10.1111/j.1600-0447.1979.tb00261.x. PMID: 474174.

Wong ML, Licinio J, Gold PW, Glowa J. Activity-induced anorexia in rats does not affect hypothalamic neuropeptide gene expression chronically. *Int J Eat Disord*. 1993 May;13(4):399-405. doi: 10.1002/1098-108x(199305). PMID: 8387855.

Wood GK, Tomaszewicz H, Rutishauser U, Magnuson T, Quirion R, Rochford J, Srivastava LK. NCAM-180 knockout mice display increased lateral ventricle size and reduced prepulse inhibition of startle. *Neuroreport*. 1998 Feb 16;9(3):461-6. doi: 10.1097/00001756-199802160-00019. PMID: 9512390.

Xiao MF, Xu JC, Tereshchenko Y, Novak D, Schachner M, Kleene R. Neural cell adhesion molecule modulates dopaminergic signaling and behavior by regulating dopamine D2 receptor internalization. *J Neurosci*. 2009 Nov 25;29(47):14752-63. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4860-09.2009. PMID: 19940170; PMCID: PMC6666007.

Zhao M, Janson Lang AM. Bromodeoxyuridine infused into the cerebral ventricle of adult mice labels nigral neurons under physiological conditions--a method to detect newborn nerve cells in regions with a low rate of neurogenesis. *J Neurosci Methods*. 2009 Nov 15;184(2):327-31. doi: 10.1016/j.jneumeth.2009.08.007. Epub 2009 Aug 20. PMID: 19699232.

Zhu MY. Noradrenergic Modulation on Dopaminergic Neurons. *Neurotox Res*. 2018 Nov;34(4):848-859. doi: 10.1007/s12640-018-9889-z. Epub 2018 Mar 23. PMID: 29572781.

Zimmerberg B, Shartrand AM. Temperature-dependent effects of maternal separation on growth, activity, and amphetamine sensitivity in the rat. *Dev Psychobiol*. 1992 Apr;25(3):213-26. doi: 10.1002/dev.420250306. PMID: 1618372.

Žepić M. Latinsko-hrvatskosrpski rječnik. Školska knjiga, Zagreb, 1967.

## BIOGRAFIJA

Dr Slobodan Kapor rođen je 20. decembra 1991. godine u Sarajevu. Osnovnu školu i gimnaziju završio je u Gornjem Milanovcu. Medicinski fakultet u Beogradu je upisao 7. jula 2010. godine, a diplomirao je 30. juna 2016. godine sa prosečnom ocenom 9.00. Još kao student dr Kapor, učestvuje u naučno-istraživačkom radu iz čega proizilaze radovi prezentovani na studentskim kongresima u zemlji i inostranstvu.

Od februara 2018. godine zaposlen je na Institutu za anatomiju „Niko Miljanić“ Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu kao saradnik u nastavi, a od novembra 2019. godine izabran je u zvanje asistenta za užu naučnu oblast Anatomija. Osnovnu, zdravstvenu specijalizaciju iz plastične, rekonstruktivne i estetske hirurgije pohađa od oktobra 2018. godine. U periodu od 2016-2018. dr Kapor je bio istraživač saradnik na projektu Ministarstva nauke Republike Srbije br. 173022 „Neurobiologija spavanja u starenju i bolesti – elektroencefalografski markeri i modeliranje u proceni poremećaja“. Od 2018. godine je saradnik na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj pod brojem III41020 „Morfološke promene u mozgu kod osoba sa transseksualizmom, drugim poremećajima polnog identiteta i razvojnih psihijatrijskih poremećaja“.

U periodu od 2017-2020. godine dr Kapor je više puta boravio kao gost predavač u Velikoj Britaniji na Univerzitetima u Kembridžu, Oksfordu i Sent Endruzu.

Autor je brojnih naučno istraživačkih radova od kojih je 10 publikovano u časopisima koji su sa JCR liste. Takođe, autor je više poglavlja u udžbenicima, kao i brojnih saopštenja sa naučnih skupova.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Слободан Капор

Број индекса 2016/5082

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

**МОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ У ДОПАМИНЕРГИЧКИМ СТРУКТУРАМА МОЗГА ПАЦОВА  
УСЛОВЉЕНЕ МАТЕРНАЛНОМ ДЕПРИВАЦИЈОМ**

---

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

### Потпис аутора

У Београду, 16/9/2021

*Slobodan Kapov*



**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Слободан Капор

Број индекса 2016/5082

Студијски програм неуронауке

Морфолошке промене у допаминергичким структурама мозга пацова  
Наслов рада условљене матерналном депривацијом

Ментор Доц.др Милан Аксић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива 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.

**Потпис аутора**

У Београду, 16/9/2021

*Slobodan Kapov*

## Изјава о коришћењу

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

Морфолошке промене у допаминергичким структурама мозга пацова условљене  
матерналном депривацијом

која је моје ауторско дело.

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

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

Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, 16/9/2021

