

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Дубравка З. Алексић

МОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ У ЛИМБИЧКИМ СТРУКТУРАМА МОЗГА ПАЦОВА
УСЛОВЉЕНЕ МАТЕРНАЛНОМ ДЕПРИВАЦИЈОМ

докторска дисертација

Београд, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Dubravka Z. Aleksić

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

doctoral dissertation

Belgrade, 2017

Ментор: Др Милан Аксић, доцент
Универзитет у Београду, Медицински факултет

Чланови комисије:

Др Бранислав Филиповић, редовни професор
Универзитет у Београду, Медицински факултет

Др Бранка Марковић, доцент
Универзитет у Београду, Факултет за спорт и физичко васпитање

Др Иван Јовановић, ванредни професор
Универзитет у Нишу, Медицински факултет

Датум одбране:

Захваљујем се

Доц. Др Милану Аксићу, свом ментору, учитељу и пријатељу, за указану безрезервну подршку и несебичност у преношењу знања и разумевању неопходном за израду ове докторске дисертације.

Проф. Др Браниславу Филиповићу, који ми је пружао велику подршку и чија је научна визија била инспирација у мом научном раду испуњеном увек топлином и готово родитељском атмосфером.

Проф. Др Видосави Радоњић, која ме је својим искуством и стручношћу подржавала од самог почетка научно-истраживачког рада.

Доц. Др Бранки Марковић, свом пријатељу, чији су ведар дух и осмех давали снагу за израду ове докторске дисертације.

Проф. Др Наташи Петронијевић, за безрезервну помоћ и подршку при изради ове докторске дисертације.

Проф.др Ласлу Пушкашу, на великој подршци и безрезервној помоћи при изради ове докторске дисертације.

Др Јоки Полексићу, за помоћ и подршку у лабораторијском раду, за позитивну мисао и доброту којом испуњава наш тимски рад.

Мед. Техничару Славиши Ђукић за помоћ у лабораторијском раду.

Свим члановима Института за анатомију « Нико Миљанић ».

Својој породици и својим пријатељима, који су веровали у мене и храбрили ме.

МОЈОЈ ПОРОДИЦИ

Морфолошке промене у лимбичким структурама мозга пацова условљене матерналном депривацијом

Резиме

Увод: Матернална депривација (МД) као анимални модел стреса подразумева рано одвајање младунаца (најчешће 9. постнаталног дана) од мајке на период од свега 24 часа. Рани стрес, каква је матернална депривација, омета развој мозга и води модификацији како понашања тако и бројних неуробиохемијских и морфолошких параметара. МД, као облик стреса, појачава неуроендокрину функцију и тако утиче на понашање и емоције. Животињски модели дали су нам бројне доказе који подржавају узрочно-последичну везу између раног животног стреса и психопатологије схизофреније. Неуроразвојна теорија схизофреније наглашава да је рано оштећење неурона узрок абнормалног неуромоторног и психолошког развоја. Лимбички систем сматра се могућим фокусом патолошких промена у схизофренији. Циљ овог истраживања је био да се испитају морфолошке промене настале у лимбичким структурама мозга пацова након матерналне депривације.

Материјал и методе: У експерименту су коришћени пацови оба пола соја *Wistar*. Мужјак и четири женке *Wistar* пацова старе три месеца су чувани заједно у стандардном кавезу. Трудне женке *Wistar* пацова су појединачно чуване у кавезима са 12-часовним циклусом светло-мрак. Храна и вода су били доступни *ad libitum*. Дан порођаја је означен као нулти постнатални дан (ПНД 0). Деветог постнаталног дана (ПНД 9) легла су подвргнута матерналној депривацији, при чему су младунци мушког пола били уклоњени из кавеза на 24 часа. Младунцима је измерена телесна тежина након чега су остављени у кавезима на собној температури 24 часа без мајке. Десетог постнаталног дана (ПНД 10) младунцима је опет мерена телесна тежина након чега су враћени у кавез са мајком (експериментална група). У контролној групи младунци су са својом мајком све време уз мерење телесне тежине деветог и десетог постнаталног дана (ПНД 9 и ПНД 10). ПНД 21 је извршена класификација према полу. За морфометријске студије коришћени су само мужјаци, како би се избегао сексуални диморфизам. Животиње су жртвоване шездесетог постнаталног дана (ПНД 60). Морфометријским методама извршено је мерење волумена лимбичких структура мозга пацова, одређена је густина и величина тела неурона, густина и величина тела појединих подкласа инхибиторних интернеурона, као густина

тирозинхидроксилазних и ацетилхолинских влакана и број и величина холинергичких неурона у лимбичким структурама мозга пацова.

Резултати: У овом истраживању показано је да рани стрес узрокован матерналном депривацијом 9.ПНД доводи до смањења укупног волумена лимбичких структура, амигдалоидног комплекса и nucleus accumbens-а, мозга пацова. Такође, рано одвајање младунаца од мајке води променама у инхибиторном систему лимбичких структура мозга пацова, амигдалоидном комплексу и nucleus accumbens-у путем смањења густине, броја и величине тела парвалбумин, калбиндин и калретинин имунопозитивних интернеурона. Стрес узрокован матерналном депривацијом доводи до повећавања густине тирозинхидроксилазних влакана у амигдалоидном комплексу и nucleus accumbens-у, доводећи до хипердопаминергије у лимбичким структурама мозга пацова. Матернална депривација доводи до смањења густине холинергичких влакана у амигдалоидном комплексу мозга пацова и смањења броја и величине тела холинергичких неурона у nucleus accumbens-у мозга пацова.

Закључак: Резултати добијени у овој студији, указују на могућу повезаност морфолошких промена у лимбичким структурама, амигдалоидном комплексу и nucleus accumbens-у, са постнаталним стресом током периода матерналне депривације и на тај начин дају допринос неуроразвојној етиологији шизофреније и бољем разумевању поменуте болести која погађа општу популацију.

Кључне речи: Матернална депривација (МД), шизофренија, лимбички систем амигдалоидни комплекс, nucleus accumbens, пацови.

Научна област: Неуронауке

Ужа научна област: Неуроанатомија

Morphological changes in the limbic structures of the rat brain conditioned by maternal deprivation

Abstract

Background: Maternal deprivation (MD) as an animal model of stress involves early separation cubs (by default, postnatal days 9) from the mother for a period of only 24 hours. Early stress, such as maternal deprivation, is believed that it interferes with brain development and leads to the behavior modification and changes in the numerous of neurobiochemical and morphological parameters. MD, as a form of early stress, enhances neuroendocrine function and thus influences the behavior and emotions. Animal models have given us ample evidence to support a causal relationship between early life stress and psychopathology concept of schizophrenia. Neurodevelopmental theory of schizophrenia emphasizes the early neuronal damage as the cause of abnormal neuromotor and psychological dysfunction. The limbic system has been suggested to be a possible substrate for diffuse pathological changes in schizophrenia. The aim of this study was to investigate the essence of structural changes that occurred in limbic brain of rats as the aftermath of maternal deprivation.

Material and Methods: In this experiment Wistar rats of both sexes were used. Male and four female Wistar rats, three months old, were kept together in a standard cage. Pregnant female Wistar rats were housed individually in cages with 12-hour light-dark cycle. Food and water were available ad libitum. Day of delivery was noted as prime postnatal day (PND 0). On the ninth postnatal days (PND 9) animals were exposed to maternal deprivation, when the male pups were removed from the cages for 24 hours. Pups were measured the body weight and then they were placed in cages at room temperature for 24 hours without their mother. Tenth postnatal days (PND 10) the body weight was measured again, after which pups were returned to the cage with the mother (experimental group). In the control group pups were with their mother all the time with the measurement of body weight ninth and tenth postnatal day (PND 9 and PND10). On PND 21 pups were classified by the sex. For morphometric studies were used only males, in order to avoid sexual dimorphism. Animals were sacrificed sixtieth postnatal days (PND 60). Used morphometrical method for measurement of the volume of limbic structures of rat brain, are applied in order to evaluated the density and the size of the bodies the of neurons, the density and size of bodies of certain subclasses of inhibitory interneurons, as well as density of

acetylcholine and tyrosine hydroxylase fibers and the number and size of cholinergic neurons in the limbic structures of the brain of rats.

Results: In the present study it was shown that early stress caused by maternal deprivation on 9.PND leads to a reduction of the total volume of limbic structures, amygdaloid complex and nucleus accumbens, in the rat brain. Also, early separation of offspring from their mother leads to changes in the inhibitory system of the limbic structures in the rats brain, amygdaloid complex and nucleus accumbens, by reducing the density, number and size of the body of parvalbumin, calbindin and kalretinin positive interneurons. Stress caused by maternal deprivation results with an increase in the density of tyrosine hydroxylase fibers in the amygdaloid complex and nucleus accumbens, and leads to hyperdopaminergic in limbic structures of the rat brains. Maternal deprivation caused a decrease in the density of cholinergic fibers in the amygdaloid complex of the rat brain and decrease in the number and size of the body of the cholinergic neurons in the nucleus accumbens of rat brain.

Conclusion: The results obtained in this study suggest a possible link between morphological changes in the limbic structures, the amygdala complex and the nucleus accumbens, and the postnatal stress over a period of maternal deprivation and thus contribute neurodevelopmental etiology of schizophrenia and a better understanding of mentioned disease that affects the general population.

Keywords: Maternal deprivation (MD), schizophrenia, limbic system, amygdaloid complex, nucleus accumbens, the rats.

Research area: Neuroscience

Special topics: Neuroanatomy

САДРЖАЈ

1.	УВОД	1
1.1.	ОПШТА ОРГАНИЗАЦИЈА ЛИМБИЧКОГ СИСТЕМА	2
1.1.1.	Историјат	2
1.1.2.	Анатомија лимбичког система	4
1.1.3.	Амигдалоидни комплекс (<i>corpus amygdaloideum, amygdala</i>)	5
1.1.4.	<i>Nucleus accumbens</i>	13
1.2.	СХИЗОФРЕНИЈА И РАНИ СТРЕС	16
1.3.	МАТЕРНАЛНА ДЕПРИВАЦИЈА КАО МОДЕЛ РАНОГ СТРЕСА	20
1.4.	ИНТЕРНЕУРОНИ.....	24
1.5.	ДОПАМИНЕРГИЧКИ СИСТЕМ	27
1.6.	ГАВА-ЕРГИЧКИ СИСТЕМ.....	30
1.7.	ХОЛИНЕРГИЧКИ СИСТЕМ	32
2.	ЦИЉЕВИ	34
3.	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	37
3.1.	ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ.....	38
3.2.	ТРЕТИРАЊЕ ЖИВОТИЊА	38
3.3.	ПРИПРЕМА УЗОРАКА ЗА ИМУНОХИСТОХЕМИЈУ (КРИОПРЕСЕЦИ).....	39
3.4.	ОПШТИ ПРОТОКОЛ ЗА ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО БОЉЕЊЕ	41
3.5.	МОРФОЛОШКЕ СТУДИЈЕ.....	42
3.5.1.	Одређивање волумена амигдалоидног комплекса и <i>nucleus accumbens-a</i>	42
3.5.2.	Квантификација величине тела неурона и интернеурона.....	43
3.5.3.	Квантификација густине неурона и интернеурона.....	44
3.5.4.	Одређивање густине тирозинхидроксилазних (ТН+) и ацетилхолинских (ChaТ+) влакана	44
3.6.	СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА.....	45
4.	РЕЗУЛТАТИ	46
4.1.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ВОЛУМЕН АМИГДАЛОИДНОГ КОМПЛЕКСА	47
4.2.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ВОЛУМЕН <i>NUCLEUS ACCUMBENS-A</i>	48
4.3.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ NEU-N ИМУНОРЕАКТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	50
4.4.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ NEU-N ИМУНОРЕАКТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS-U</i>	51
4.5.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ NEU-N ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	53
4.6.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ NEU-N ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS-U</i>	54
4.7.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ ПАРВАЛБУМИН (PV) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ.....	56
4.8.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ ПАРВАЛБУМИН (PV) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS-U</i>	57
4.9.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ КАЛРЕТИНИН (CR) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ.....	59
4.10.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ КАЛРЕТИНИН (CR) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS-U</i>	61

4.11.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ КАЛБИНДИН (СВ) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	62
4.12.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ КАЛБИНДИН (СВ) ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У	64
4.13.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ РV ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	65
4.14.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ РV ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У.....	67
4.15.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ СR ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	69
4.16.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ СR ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У	71
4.17.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ СВ ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	73
4.18.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ СВ ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У	75
4.19.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ ТН+ ИМУНОРЕАКТИВНИХ ВЛАКАНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	77
4.20.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ ТН+ ИМУНОРЕАКТИВНИХ ВЛАКАНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У	78
4.21.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ СНАТ+ ИМУНОРЕАКТИВНИХ ВЛАКАНА У АМИГДАЛОИДНОМ КОМПЛЕКСУ	80
4.22.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ГУСТИНУ СНАТ+ ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У.....	81
4.23.	УТИЦАЈ МАТЕРНАЛНЕ ДЕПРИВАЦИЈЕ НА ПОВРШИНУ СНАТ+ ИМУНОПОЗИТИВНИХ НЕУРОНА У <i>NUCLEUS ACCUMBENS</i> -У	82
5.	ДИСКУСИЈА	84
6.	ЗАКЉУЧЦИ	98
7.	ЛИТЕРАТУРА	101
	СПИСАК СКРАЋЕНИЦА	134

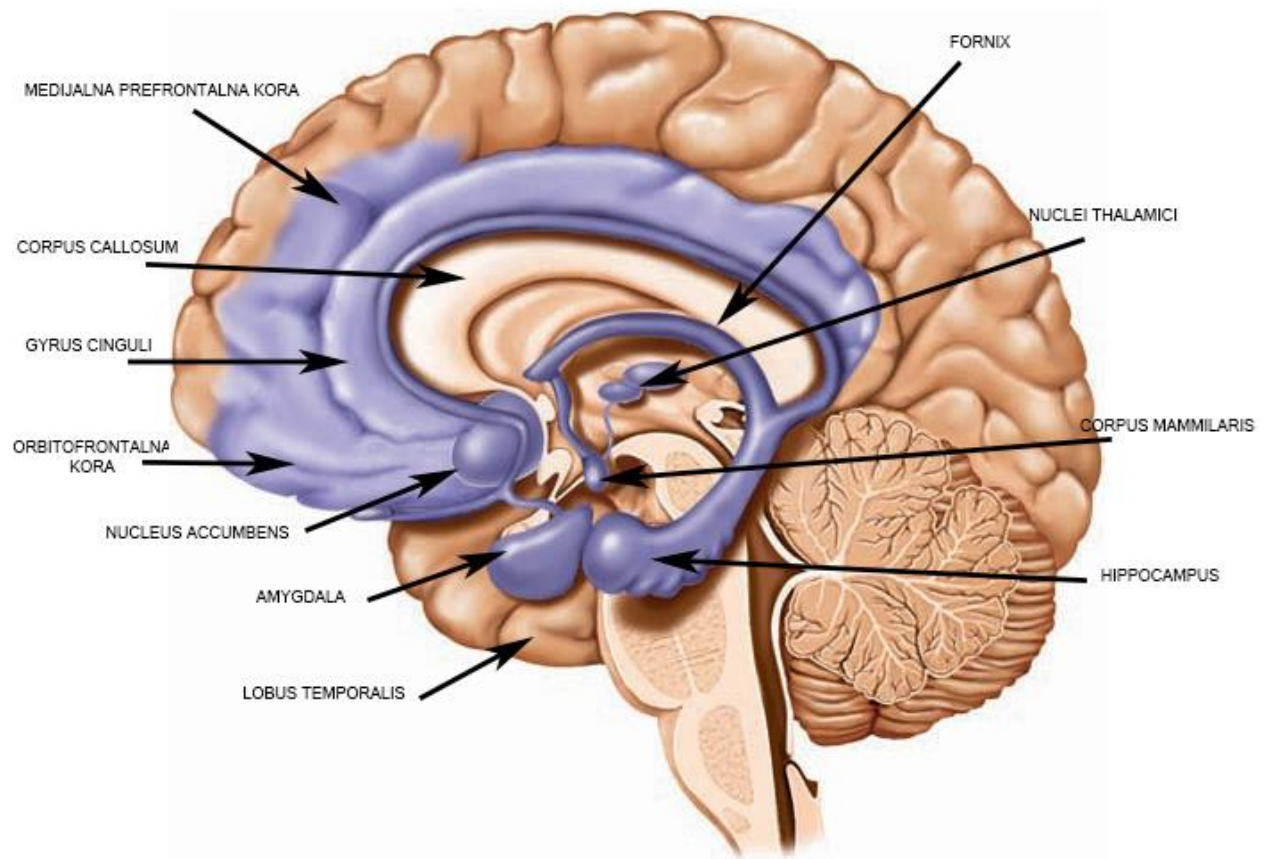
1. УВОД

1.1. Општа организација лимбичког система

1.1.1. Историјат

Paul Pierre Broca, француски анатом и антрополог, је 1878. године први пут употребио термин „le grand lobe limbique“ како би описао граничне (limbus – лат. ивица) структуре коре великог мозга које укључују цингулатни и парахипокамбални гирус. Претпостављену улогу лимбичког система, наставио је да проучава амерички лекар, James Papez, и 1937. године је објавио рад под називом „Предложени механизам емоција“. Предложени анатомски модел назван је Папезов круг. Папезов круг, као једна од веза лимбичког система, обухвата више можданих структура, а почиње и завршава се у хипокампусу (Papez, 1937). Истраживања су показала да је просечна величина Папезовог круга око 350 микрометара. Папезов круг обухвата: хипокамбалну формацију – субикулум – форникс - мамиларна тела - мамилоталамички пут - предња таламичка једра – цингулум - енторијални кортекс - хипокамбална формацију (Papez, 1937). Године 1948, Yakovlev предлаже неуронски круг контроле емоција (Јаковљев круг), који обухвата орбитофронталну, инсуларну и предњу темпоралну кору, амигдалоидни комплекс и дорзомедијално једро таламуса (Yakovlev PI, 1948). Термин „лимбички систем“ створио је 1952. године, Paul D. MacLean, амерички лекар и неуронаучник, како би описао Брокин лимбички лобус и са њим повезана супкортикална лимбичка једра као неурални супстрат емоција (Rajmohan and Mohandas, 2007). MacLean (Maclean, 1990), заправо, допуњује описани Папезов круг амигдалоидним комплексом и септалним регионом. Данас се сматра да не постоји опште прихваћена листа свих структура које чине лимбички систем (Rajmohan i Mohandas, 2007).

С обзиром на многобројне улоге лимбичког система, његова дисфункција доводи до бројних и различитих психијатријских поремећаја, као што су биполарни поремећај, депресија, шизофренија али и до различитих пратећих неуролошких дефицита.



Слика 1. Анатомски приказ појединих структура лимбичког система (модификовано из Saladin, 2008)

1.1.2. Анатомија лимбичког система

Лимбички систем представља комплексан део централног нервног система чије су функције повезане са емоционалним и сексуалним понашањем, процесом памћења, мишљењем, као и контролом појединих вегетативних функција (Marinković i sar, 2016). Лимбички систем се назива и „висцерални мозак“. Такође, лимбички систем чини и церебралну основу личности јер се емоционалност и афективна испољавања везују за оно што се код човека назива личност (Malobabić i Gudović, 1995). Лимбички систем се састоји из филогенетски старог лимбичког лобуса и супкортикалних лимбичких структура и њихових међусобних веза (Пић i sar, 2004).

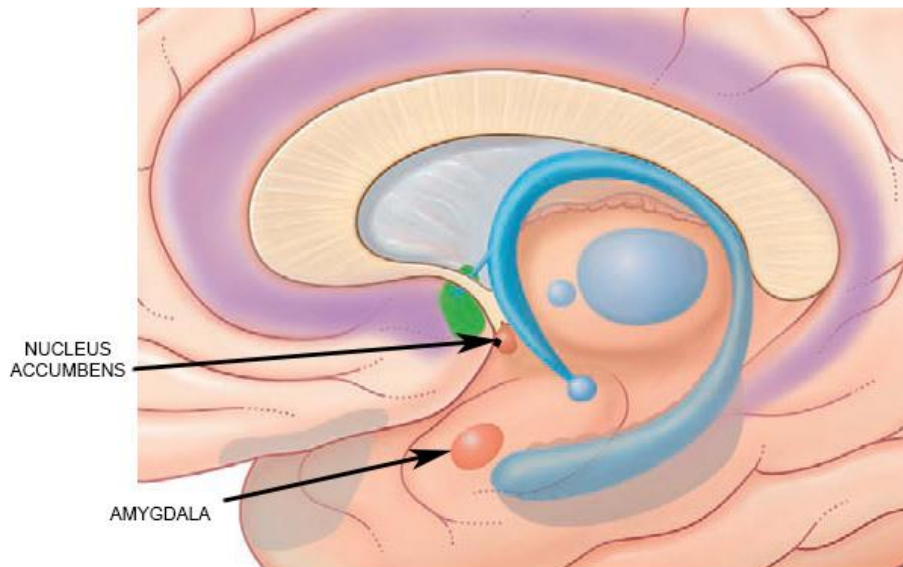
Лимбички лобус чине лимбичка кора и одговарајући део беле масе хемисфере са супкортикалним лимбичким једрима. Лимбичка кора је део мождане коре која припада лимбичком систему и може се поделити на медијалну и базолатералну област (Malobabić i sar, 2007). Медијална област лимбичке коре налази се на унутрашњој и доњој страни хемисфера великог мозга где формира два појаса („limbus“ lat.-поруб) око *corpus callosum*-а, унутрашњи и спољни. Спољни појас медијалне лимбичке коре одвојен је од периферног дела неокортекса жлебовима: *sulcus cinguli*, *sulcus subparietalis*, *sulcus collateralis* и *sulcus rinalis* (Marinković i sar, 2016). Спољни појас медијалне лимбичке коре формирају: *area subcallosa*, *gyrus cinguli*, *isthmus gyri cinguli*, *gyrus parahippocampalis* са *uncus*-ом. *Gyrus parahippocampalis* састоји се из неколико важних поља. Највеће поље је *area entorhinalis*, док мање поље лежи у *sulcus hippocampi* и назива се *subiculum*, док су унутра од *subiculum*-а *praesubiculum* и *parasubiculum*. Унутрашњи појас медијалне лимбичке коре одвојен је од спољног појаса дорзално путем *sulcus corpori callosi*, а вентрално и медијално путем *sulcus hippocampi*. Унутрашњи појас медијалне лимбичке коре чине: *gyrus paraterminalis*, танак слој сиве масе који покрива *corpus callosum* и назива се *induseum griseum*, *gyrus fasciolaris* и *gyrus dentatus*. Медијална област лимбичке коре филогенетски припада *allocortex*-у, једино кора *gyrus-a cinguli* припада прелазном *neocortex*-у тј. *mesocortex*-у. Базолатерална област лимбичке коре обухвата предње и латералне делове слепоочног режња („предњи темпорална кора“), задњи део доње стране чеоног режња („орбитофронтална кора“) и кору инсуле (Malobabić i sar, 2007). Делови

лимбичке коре повезани су међусобно, али и са другим деловима коре хемисфера великог мозга. Најважнија три неуронска система лимбичке коре су: Папезов круг, везе са неокортексом и *fornix*.

Супкортикалне лимбичке структуре јесу лимбичка једра у која се могу уврстити: једра хипоталамуса, амигдалоидни комплекс једара, септални предео (*area septalis* и *nuclei septales*), сива маса базалног теленцефалона (*nucleus tractus diagonalis*, *nucleus basalis-Meynerti*), *substantia innominata-Reichert*, *nucleus accumbens*, предње и дорзомедијално једро таламуса, једра *habenulae* и вентрална тегментална област *mesencephalona* (Malobabić i sar, 2007).

1.1.3. Амигдалоидни комплекс (corpus amygdaloideum, amygdala)

Амигдалоидни комплекс представља супкортикалну сиву масу веома сложене структуре. Амигдалоидни комплекс је први пут идентификовао и описао, почетком 19. века, немачки физиолог, Karl Fridrih Burdah. Амигдалоидни комплекс је бадемастог облика, која лежи у близини темпоралног пола хемисфере великог мозга испод предњег краја темпоралног рога бочне мождане коморе (Ilić i sar, 2004). Амигдалоидни комплекс се протеже између предњег краја доњег рога бочне мождане коморе и предњег краја хипокампадне формације. Део коре великог мозга који окружује овај комплекс једара назива се периамигдалоидна кора. Уопштено, код човека, амигдалоидни комплекс се састоји из веће базолатералне групе једара (филогенетски млађа и припада лимбичком систему) и мање кортикомедијалне групе (филогенетски старија и повезана је са олфактивним системом) (Ilić i sar, 2004).



Слика 2. Анатомски положај амигдалалоидног комплекса и nucleus accumbens-a на медијалној страни хемисфере великог мозга (модификовано из Fitzgerald i sar, 2012).

Амигдалоидни комплекс се састоји из 13 једара која су груписана у подјединице које формирају интрануклеарне и интернуклеарне везе (Sah i sar, 2003). Амигдалоидни комплекс се развија релативно рано током гестације (30 - 50 дана), али се појединачна једра не диференцирају до почетка постнаталног периода (Kordower I sar, 1992). Бројне су недоумице везане за критеријуме по којима се једра амигдалоидног комплекса могу поделити у групе. Традиционална подела сврстава једра амигдале у 3 велике групе:

- дубока једра (латерално, базално, акцесорно базално и парамамиларно) која су претежно повезана са неокортексом и хипокампаалном формацијом и укључена су у обраду сензорних информација;
- површна једра (медијално, антериорна и постериорна кортикална једра) која остварују везе са олфактивним регијама и хипоталамусом и играју улогу у сексуалном понашању;

- друга једра (централно, предња амигдалоидна регија, амигдалохипокампадна регија и интеркалатна регија) (LeDoux, 1996).

Истраживања на макаки мајмунима која је спровео Emery (Emery i sar, 1997) омогућила су сагледавање анатомских веза и дефинисање другачије терминологије у класификацији амигдалоидних једара (Uljarević i Nešić, 2008). Према овом истраживању амигдалоидна једра могу се поделити у 3 групе:

- базолатерална група једара (латерално, базално латерално, медијално базално и акцесорна базална једра) - садрже неуроне који реагују на лица и акције других (Rolls, 1992; Brothers I sar, 1990),

- центромедијална група (централно, медијално, кортикална једра и периамигдалоидни комплекс) - инервише многе висцералне регионе мозданог стабла,

- група периферних једара (кортикална транзициона регија, предња амигдалоидна регија и амигдалоидно-хипокампадна регија) (Uljarević i Nešić, 2008).

Такође, ова подела једара амигдалоидног комплекса, предлаже да латералну и базалну амигдалу можемо сматрати нуклеарном екстензијом коре великог мозга, док централна и медијална амигдала јесу венстрална екстензија striatum-a (Emery i sar, 1997).

Амигдалоидни комплекс повезан је са многим мозданим структурама укључујући хипоталамус, неокортекс, лимбички *striatum (nucleus accumbens)* и венстрални *striatum*, неостријатне структуре (*nucleus caudatus* и *putamen*), хипокампадну формацију (*formatio hippocampi*) и *bedem (claustrum)* (Russchen i sar, 1985; Russchen i sar, 1985a). Амигдалоидни комплекс добија аферентна влакна из хипоталамуса, мозданог стабла, кортекса и таламичких структура. Кортикални и таламички инпути дају информације из сензорних поља и структура које имају улогу у меморији. Инпути из хипоталамуса и мозданог стабла обезбеђују информације из аутономних и бихејвиоралних система. Кора великог мозга путем глутаматергичких пројекција које полазе из пирамидалних неурона петог слоја, обезбеђује сензорне информације за амигдалу (Uljarević i Nešić, 2008). Ове

пројекције су ипсилатералне, улазе у амигдалу преко спољашње капсуле (*capsula externa*) и преносе обрађене информације из асоцијативних зона. Обрађене информације се могу поделити на модално специфичне сензорне информације, полимодалне и оне које полазе из меморијског система медијалног темпоралног режња. Еферентна влакана из амигдалоидног комплекса одлазе до коре великог мозга, хипоталамуса и делова možданог стабла (Sah i sar, 2003).

Амигдалоидни комплекс је одговоран за детекцију, генерисање и одржавање емоције страха (Uljarević i Nešić, 2008). Експерименти који су спровођени на животињама и људима, као и употреба различитих техника визуализације указују на улогу амигдале у условљавању страха (LeDoux, 2000; Buchel i Dolan, 2000), препознавању уплашеног израза лица (Adolphs i sar, 1999), осећању страха након убризгавања прокаина (Ketter i sar, 1996) као и изазивању реакција карактеристичних за емоцију страха након директне стимулације (Halgren i sar, 1978). Амигдалоидни комплекс детектује могућу претњу у окружењу (Phillips i sar, 1998) а затим обликује адекватан одговор на присуство претећег стимулуса у окружењу (Kluver i Вису, 1939). Амигдалоидни комплекс се може активирати и речима (Isenberg i sar, 1999). Улога амигдалоидног комплекса јесте да сигнализира могућу претњу и на тај начин упозори организам на значајне наговештаје уместо да једноставно изазива осећање страха (Uljarević i Nešić, 2008).

Поједина истраживања указују да активација амигдалоидног комплекса није нужно специфично везана за негативне емоције или емоције страха већ се може јавити и као одговор на срећни израз лица и различите пријатне или позитивне стимулусе (Breiter i sar, 1996).

Амигдалоидни комплекс интегрише информације између префронталног/темпоралног асоцијативног кортекса и хипоталамуса. Амигдалоидни комплекс гради 2 велика еферентна пута:

- дорзални, преко терминалне стрије ка септалном подручју и хипоталамусу и
- вентрални, преко амигдалофугалног пута ка септалном подручју, хипоталамусу и медиодорзалном једру таламуса (Mark i sar, 1995).

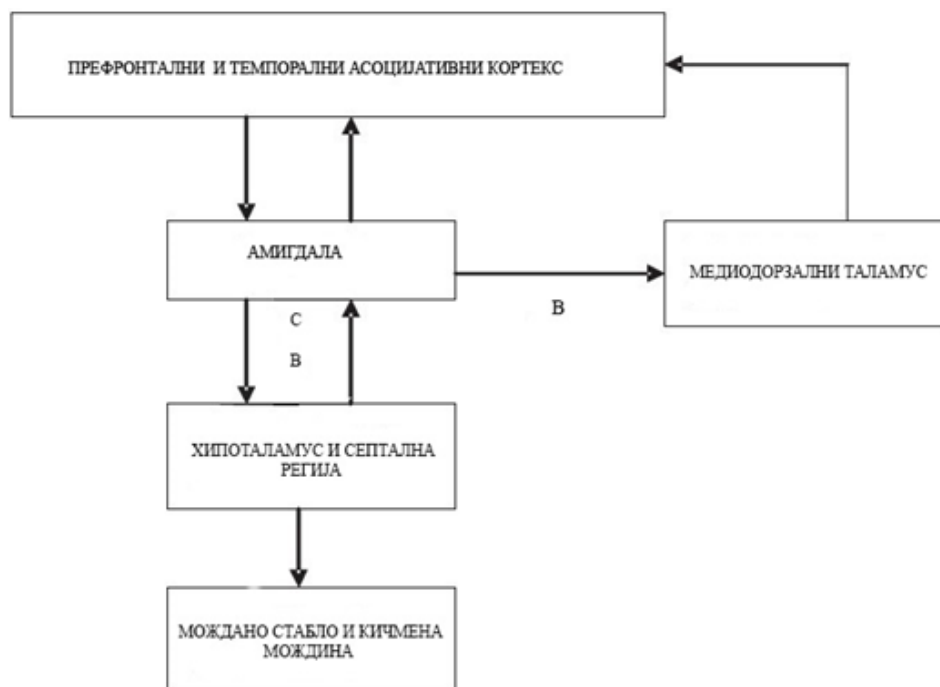


Схема 1. Амигдало-септални пут; С- Терминална стрија; В-Вентрални амигдалофугални пут (модификовано из Rajmohan i Mohandas, 2007).

Амигдалоидни комплекс, остварује и везе са базалним гангијама преко пројекција које шаље у вентрални *pallidum* и вентрални *striatum*, а које се враћају назад у кору великог мозга преко дорзомедијалног једра таламуса (Rajmohan i Mohandas, 2007).

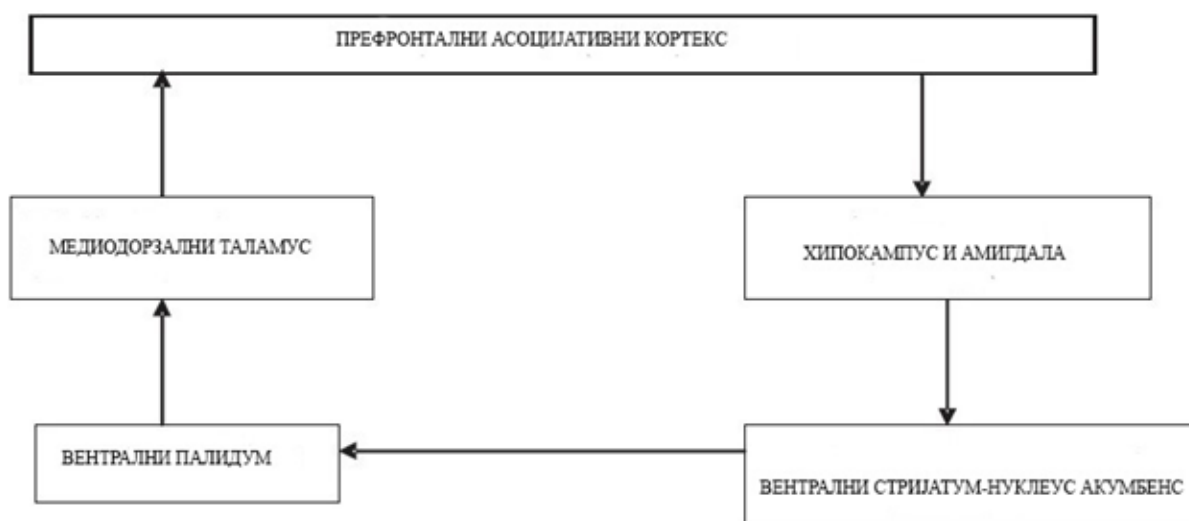


Схема 2. Неуронски круг између амигдалоидног комплекса и базалних ганглија (модификовано из Rajmohan i Mohandas, 2007).

Базолатерални лимбички круг повезан је са базолатералним једром амигдалоидног комплекса. Овај круг састоји се из орбитофронталне коре и предњег темпоралног кортекса, амигдалоидног комплекса (базолатералног дела) и магноцелуларног дела дорзомедијалног једра таламуса (фронтоталамички пут) из којег се влакна враћају назад у орбитофронталну кору. Базолатерални лимбички круг преноси информације везане за социјалне планове и социјално понашање (Firth, 1996).

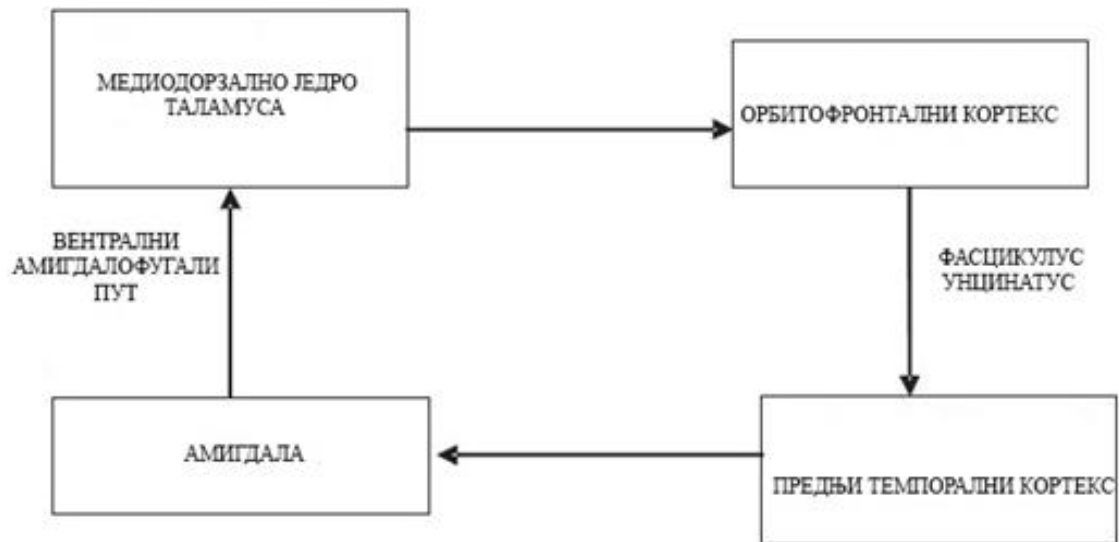
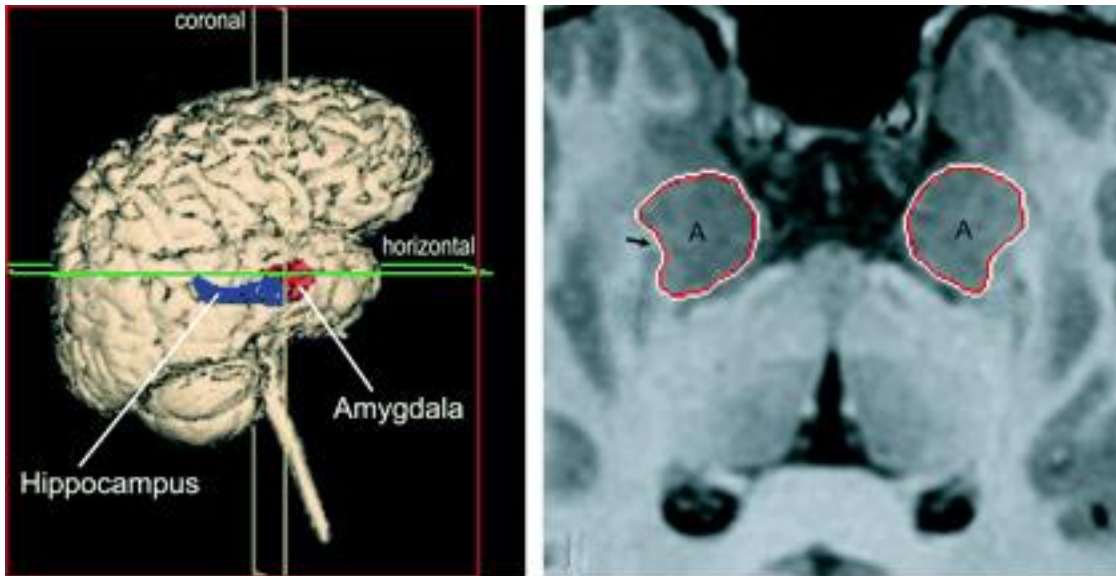


Схема 3. Базололатерални неуронски круг (модификовано из Rajmohan i Mohandas, 2007).



Слика 3. Приказ хуманог амигдалоидног комплекса на хоризонталном пресеку мозга (модификовано из Schumann i sar, 2004).

Анималне студије представљају модел избора за експериментално испитивање и истраживање функција амигдалоидног комплекса и патолошких последица његове дисфункције. Већина студија користи пацове и / или мишеве. Током последњих 40 година, истраживања на пацовима, постала су главни модел за проучавање емоционалног учења (LeDoux, 2000; Maren, 2001). Комбинација анатомских анализа, лезија, електрофизиолошких студија и студија понашања дала је важне податке у вези са биолошким механизмима путем којих један стимуланс (обично звук) добија емотивну вредност. Посебна неуронска кола у амигдалоидном комплексу детектују условљене и безусловне подстицаје, а механизми синаптичке пластичности посредује накнадно емоционално учење (Pape i Pare, 2010; Johansen i sar, 2011).

У мозгу пацова, амигдалоидни комплекс се налази на каудалном крају кортико-субкортикалне границе и састоји се од хетерогене колекције, кортикалних и субкортикалних једара. Swanson и Petrovich (1998), открили су да амигдалоидна једра кортикале групе, као што су базолатерална једра и амигдало-хипокампуса транзициона зона показују ниску густину GABA (или GAD) имунореактивних ћелија, што је карактеристика и коре великог мозга. Насупрот томе, централна и медијална група једара

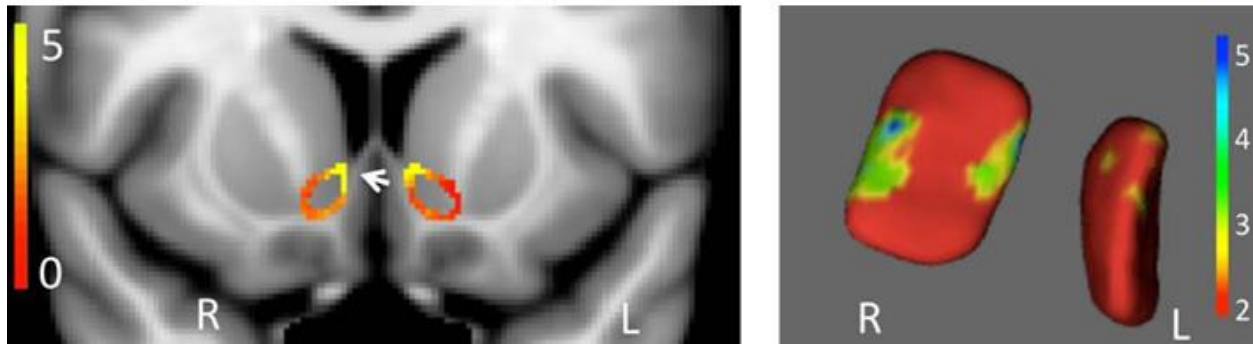
амигдалоидног комплекса показује веома велику густину GABA-ергичких ћелија, слично *striatum*-у и *pallidus*-у.

Као и у другим деловима латералног и вентралног палиума (Martinez-Garcia i sar, 2012), под палиумом амигдалоидног комплекса треба сматрати алокортикалне структуре. Алокортекс показује организацију која се карактерише присуством површинских, слојевитих кортикалних области и неслојевитим структурама (нуклеарна организација) дубоко испод кортикалних структура, под називом "хипо-палиални центри". Оваква организација је присутна у амигдалоидном комплексу испод кортекса и неколико дубоких једара, које описујемо као "дубоки палиум амигдале". Кортикална амигдалоидна једра показују трослојну структуру, са спољним молекуларним слојем (или слојем 1) у којем се налазе директне пројекције из *bulbus*-а *olfactorius*-а, плус два ћелијска слоја (слој 2-3), од којих спољашњи показује већу густину ћелија. Кортикална амигдалоидна једра се називају у складу са својим локацијама: предња кортикална амигдала (ACo), постеролатерална и постеромедијална (PLCo и PMCo) једра. Хипопалиална једра, смештена су дубоко испод кортикалних једара и чине их (према Хомгрен терминологији) базолателарна група једара, састављена од бочног (La), базолатералног (BL) и базомедијалног једра (BM), и амигдало-хипокампадна област (AHi). Упркос њиховој нуклеарној организацији, код одраслих може се видети кортикална природа ових центара. Прво, већина принципалних неурона ових једара амигдалоидног комплекса показују јасну пирамидалну морфологију и представљају глутаматергичке неуроне (Poulin i sar, 2008). Контрастно томе, мали део ћелија у базолателарном једру и амигдало - хипокампадној транзиционој зони су GABA-ергички интернеурони са ко-експресијом неуропептида и / или других калцијум везујућих протеина. У развојном погледу, сматра се да ембрионални неуроепителијум генерише две врсте ћелија: једне, које ће мигрирати на површину мозга и формирати кортикална једра и друге, које у својој миграцији не досежу површину мозга већ остају у унутрашњости хемисфере дајући дубока палиална амигдалоидна једра. Другим речима, свако кортикално једро има свој пар у виду дубоког палијалног једра насталог од истог дела неуроепителијума (Paxinos, 2014). Латеропалиални део амигдалоидног комплекса у пацовском мозгу чине: кортико-амигдалоидна транзициона зона (CxA), амигдало-пириформна транзициона зона (Apir), базолатерално амигдалоидно једро (BL) и латерални

олфактивни пут (LOT). Вентропалиални део амигдалоидног комплекса чине: предње - кортикално једро (Асо), задње-латерално кортикално једро (PLCo), предње - медијално кортикално једро (PMCo), базомедијално амигдалоидно једро (BM), амигдало - хипокампадна поље (AHi) и латерално амигдалоидно једро (La). Субпалијални део амигдалоидног комплекса настаје од ћелија субпалијалног теленцефалона и других делова прозенцефалона. Субпалијални део амигдалоидног комплекса чине централно (Ce) и медијално једро (Me). Влакна која повезују амигдалоидни комплекс са екстракортикалним или екстрателенцефаличним центрима граде три велика пута: *stria terminalis*, *ansa peduncularis* и задњи део *commissura-e cerebri anterior*. Сва три пута су праћена ћелијским групама које примају нисходне пројекције из појединих делова амигдалоидног комплекса са којима деле неке од својих пројекционих циљева. Ове структуре заједно чине део амигдалоидног комплекса дефинисан као проширена амигдала (Paxinos, 2014).

1.1.4. Nucleus accumbens

Nucleus accumbens је субкортикална сива маса која се налази у предњем делу базе мозга, где су глава *nucleus-a caudatus*-а и *putamen* спојени док је медијално у односу са септалним једрима. Овакав положај *accumbens*-а указује да је ово једро веза између екстрапирамидалног и лимбичког система. *Nucleus accumbens* са каудалним делом *substantia perforata anterior* и *tuberculum olfactorium*-ом припада стријатном систему сивих маса које се заједничким именом називају *ventralni striatum*. Структура овог једра је веома сложена па се на њему могу разликовати средишња област тј. језгро -„core“ и љуска - „shell“ које имају различите везе са другим можданим структурама, као и различит садржај неуротрансмитера (Salgado i Kaplitt, 2015).



Слика 4. MRI приказ *nucleus accumbens*-а на короналном пресеку мозга и приказ изолованог *nucleus accumbens*-а (модификовано из Gilman i sar, 2014)

Љуска је спољашњи (периферни) део *nucleus accumbens*-а и често се сматра делом тј. продужетком амигдале на ростралном крају. Доминантни неурони љуске су средњи бодљикави неурони (*medium spiny neurons*) који поседују D1 и D2 тип допаминских рецептора (Yager i sar, 2015; Ferre i sar, 2010). Неурони смештени у љусци имају мању густину дендритских бодљи, мање терминалне сегменте и мање гранање. Ови неурони шаљу своје аксоне у субкомисурални део вентралног *pallidum*-а, вентралну тегменталну област, хипоталамус и продужену амигдалу (Shirayama i sar, 2006). Језгро је унутрашњи (централни) део *nucleus accumbens*-а и сматра се делом вентралног *striatum*-а тј. базалних ганглија. Доминантне ћелије језгра су средњи трнасти неурони који поседују D1 и D2 рецепторе али за разлику од неурона љуске они имају већу густину дендритских бодљи, веће гранање и веће терминалне сегменте. Неурони језгра шаљу своје аксоне и у *globus pallidus*-у и *substantia nigra*-у (Shirayama i sar, 2006).

Аферентна влакна у *nucleus accumbens* долазе из префронталног кортекса, амигдалоидног комплекса тј. базолатералног једра (преко вентралног амигдалофугалног пута), хипокампадне формације (преко прекомисуралног форникса), постелног једра терминалне стрије (*bed nucleus stria terminalis*) и из вентралне тегменталне области (VTA) преко мезолимбичког пута. Веома су значајна аферентна, допаминергичка влакна из вентралне тегменталне области средњег мозга (*mesencephalon*) која граде мезолимбички пут. Ова влакна модулишу активност *nucleus accumbens*-а (Robinson, 2011). Амигдалофугална влакна терминалне стрије, улазе у *nucleus accumbens*. Влакна из хипокампадне формације долазе заправо из CA1 региона, као и из вентралног субикулума

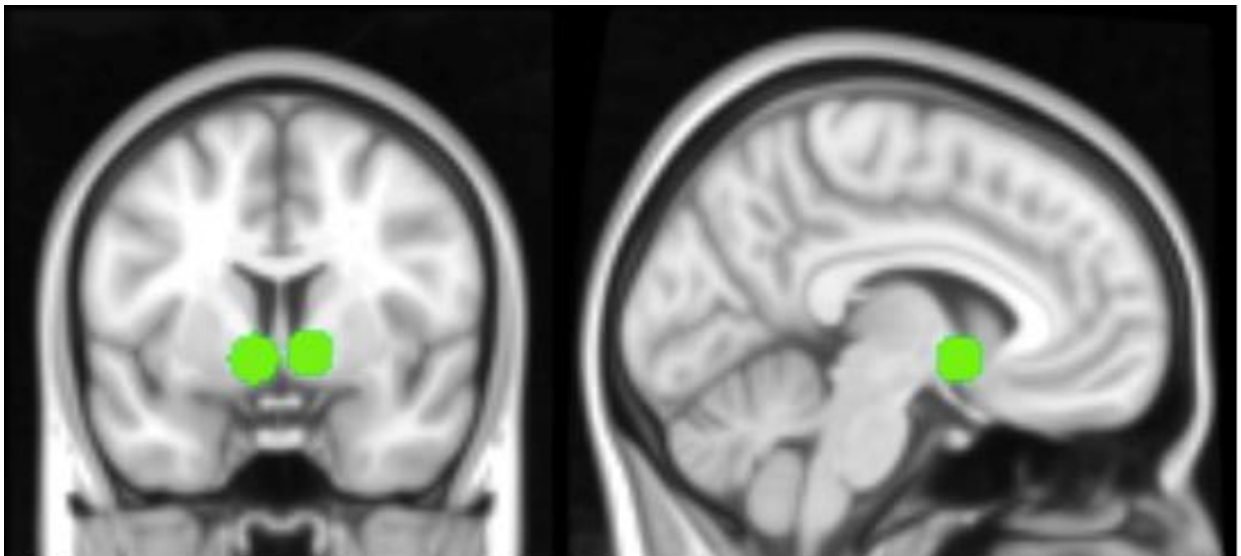
и пружају се до дорзомедијалног дела *nucleus accumbens*-а. Ова аферентна влакна деполаришу ћелије у *nucleus accumbens*-у и на тај начин их чине ексциtabilнијим (Goto i O'Donnell, 2011). *Nucleus accumbens*, добија и хистаминергичку инервацију из туберомамиларног једра хипоталамуса (Malenka i sar, 2009).

Еферентне пројекције *nucleus accumbens* шаље ка базалним ганглијама, *globus pallidus*-у тј. вентралном *pallidus*-у, хипоталамусу, репу вентралне тегменталне области и сивој маси можданог стабла тј. ка *pons*-у и ретикуларној формацији (Barrot i sar, 2012) Влакна *nucleus accumbens* усмерена према *globus pallidus*-у представљају важну везу између лимбичког и моторног система. Влакна из вентралног *pallidus*-а одлазе у медиодорзално једро таламуса, а одатле ка префронталном кортексу и *striatum*-у (Carlson, 2013).

Nucleus accumbens је функционална веза између лимбичког и моторног система и игра веома важну улогу у контроли биолошких нагона кључних у преживљавању и репродукцији (Wise, 1982; Mogenson i sar, 1980). Он је, укључен и у процес учења, појаву импусивног понашања, ризичног понашања, стицање навика у исхрани, сексуалну мотивацију, осећање награде (Gong i sar, 1999; Roberts i sar, 2012). Сматра се да *nucleus accumbens* има важну улогу у позитивном емотивном одговору као противтежа негативном емоционалном одговору посредованог амигдалом (Di Chaira, 1995). Претпоставља се да постоји и разлика у функцији језгра и љуске *nucleus accumbens*-а. Љуска је одговорна за модулацију нових особина, стицање навика у јелу, наградно понашање (Balleine i Killcross, 1994). Језгро игра улогу у просторном учењу, одговору на мотивационе стимулусе, избору импулса и делује симултано са предњом цингулатном кором преко кортикостријатног пута (Parkinson i sar, 2000; Ito i sar, 2004).

У пацовском мозгу, *nucleus accumbens*, се описује као базална ганглија која је посредник између лимбичког и нелимбичког система. *Nucleus accumbens* је део *striatum*-а заједно са *caudatus*-ом и *putamen*-ом. *Nucleus accumbens* је, и у пацовском мозгу, сложено једро, састављено из две анатомски и функционално различите целине, љуске -„shell“ и језгра - „core“. Главни типови неурона у пацовском *striatum*-у, па и у *nucleus accumbens*-у, трновити пројекциони неурони (*spiny projection neurons*) (Bishop i sar, 1982). Пројекциони неурони чине у пацовском *striatum*-у, чак 95% укупног броја неурона (Kemp i Powell, 1971). Ови неурони су прилично хомогено дистрибуирани. Остали неурони у *striatum*-у су

интернеурони, који своје аксоне дистрибуирају унутар *striatum*-а, успостављајући синапсе међусобно, као и са пројекционим неуронима (Bishop i sar, 1982). Међу овим интернеуронима доминирају велики ацетилхолински (Bolam i sar, 1984; Kawaguchi i Kubota, 1993) и GABA-ергички интернеурони (Bishop i sar, 1982; Kita i Kitai, 1988).



Слика 5. MRI приказ хуманог *nucleus accumbens*-а на короналном и сагиталном пресеку мозга (Sherman i sar, 2016)

1.2. Схизофренија и рани стрес

Схизофренија је хронична ментална болест која спада у групу психоза. Истраживања показују да од схизофреније болује 1% светске популације. Инциденца обољевања износи 2-4 особе на 10000 становника у једној календарској години, без обзира на расу, веру или географске одреднице. Болест најчешће почиње крајем друге и почетком треће деценије живота и дискретно чешће се јавља код мушкараца. Схизофренија је болест која не погађа само појединца, већ и породицу и друштво, с обзиром на дуготрајно лечење, честе

хоспитализације и инвалидност који су проблеми од општег значаја (Jašović-Gasić i Lečić-Toševski, 2007).

Схизофренија је полигенска болест (наслеђује се посредовањем већег броја гена) и недовољно познате етиологијом (фактори средине у великој мери доприносе појави болести). Дефиниција етиопатогенезе болести мењала се са увећњем знања из различитих области неуронаука (Jašović-Gašić i Lečić-Toševski, 2007). Концепт схизофреније као неуроразвојне болести датира још из времена Краепелин и Bleuler (Shenton ME i sar, 2001), који су забележили неуролошке поремећаје и промене у понашању још у детињству код особа које ће касније оболети од схизофреније (Gupta i Kulhara, 2010). Теорију да је схизофреније неуроразвојна болест први је предложио Thomas Clouston, шкотски психијатар, назвавши је „развојно лудило“. Као неуроразвојна болест схизофренија је касна последица раних оштећења због којих долази до абнормалног неуроразвоја и следствене дисфункције (Clouston i sar, 2005). Претпоставка је да се оштећење догађа *in utero*, већ у првом или почетком другог триместра, што ће довести до активирања патолошких нервних кола у току адолесценције или раном одраслом добу са испољавањем позитивних или негативних симптома болести. Узроци поремећаја неуроразвоја могу бити различити. Сматра се да порођајне компликације у великој мери провоцирају појаву болести. Раније студије су показале да компликације трудноће или самог порођаја повећавају ризик од обољевања (Cannon i sar, 2002). Чешће обољевање од схизофреније забележено је код деце чије су мајке имале крварење у току трудноће, абрупцију плаценте, хипертензију, конзумирале диуретике, имале прееклампсију или им је дијагностикована малнутриција. Већи ризик од појаве схизофреније имала су и новорођенчад чије су мајке имале компликоване порођаје током којих је долазило до хипоксије, исхемичних повреда или перивентрикуларног крварења. Постоје подаци који показују да од схизофреније чешће обољевају и деца рођена у касну зиму или на пролеће, вероватно због могућности матерналног обољевања од вируса инфлуенце који може компромитовати неуроразвој (Mednick i sar, 1988; Kunugi i sar, 1995). Такође, постоје клинички знаци абнормалног неуроразвоја у облику дискретних неуролошких знакова или интелектуалног дефицита који ће указати на појаву схизофреније у адолесценцији. Ове физичке аномалије јесу последица поремећаја у ембриогенези тј. развоју шкржних лукова и биће видљиве као

готско непце, ниско усађене ушне шкољке, ниска линија косе на врату, дефект у прорезу очних капака и поремећају дермоглифских карактеристика (Green i sar, 1989). Деца са повећаним ризиком од обољевања имају нижи IQ, остварују лоше резултате на тестовима моторике, имају пролазне атетотичке покрете у току првих година живота, склона су променама расположења, анксиозна су и социјално неприлагођена. *Post mortem* студије као и студије имиџинг техникама показују да је мождана морфологија оболелих од схизофреније измењена. Најчешће уочене промене су увећање можданих комора, агенезија *corpus callosum*-а, стеноза *aqueductus cerebri- Sylvii, cavum septi pellucidi*, структурне промене коре великог мозга (фронталног, префронталног, темпоралног, орбитофронталног дела коре) али и промене супкортикалних структура, у лимбичком систему или базалним ганглијама, као и промене њихових међусобних веза (Shenton i sar, 2001).

Студије које показују да схизофренија води промени мождане морфологије довеле су нас и до питања да ли су структурне промене последица поремећаја неуроразвоја или неуродегенерације (Gupta i Kulhara, 2010). У прилог теорији поремећаја неуроразвоја иде чињеница да настале промене морфологије нису праћене повећаном глиозом која је неизоставни чинилац неуродегенерације. Концепт да је схизофренија неуроразвојна болест потврђује и модел предложен од стране Keshavan и сарадника, да се поремећај развоја може десити у току 2 критичне тачке за развој мождане морфологије (*in utero* или у адолесценцији) ако постоји и одговарајућа генетска основа (McCarley i sar, 1996). Развојни поремећаји ће водити дисфункцији специфичних неуронских кругова, а у адолесценцији и повећаној елиминацији синапси и губитку неуронске пластичности што ће за последицу имати појави симптома карактеристичних за схизофренију (Stow, 1990). Претпоставља се да је губитак мождане масе последица неуронске апоптозе или програмиране ћелијске смрти. Синаптичка апоптоза, при којој се апоптоза примарно локализује у дисталном делу неурита игра важну улогу у непосредној смрти неурона. *Post mortem* студије начињене над индивидуама оболелим од схизофреније показале су смањење експресије Bcl-2 молекула који штити ћелију од апоптозе. Такође се запажа да је однос проапоптотичког молекула Bax i Bcl-2 повећан, што неуроне чини подложнијим за апоптотичне стимулусе (Pirumyan i Vouajyan, 2014). Ензим каспаза 3, молекула који се

повезује са процесом апоптозе неурона, није усходно регулисан код оболелих од схизофреније сугеришући на тај начин да хронична апоптоза није наглашена што иде у прилог томе да схизофренија није класична неуродегенеративна болест. Неурони су код оболелих од схизофреније додатно осетљиви на проапоптотичке стимулусе као што је оксидативни стрес или глутаматска екситотоксичност што доприноси селективном губитку дендрита и синапси (Pirumyan i Boyajyan, 2014).

Поремећај неуроразвоја реперкутоваће се и на неуротрансмитерски систем. Претпоставља се да је дисфункција допаминергичног система кључна у патогенези схизофреније што последично утиче и на модулисање глутаматергичног, ГАВА-ергичког, холинергичког и серотонергичног система.

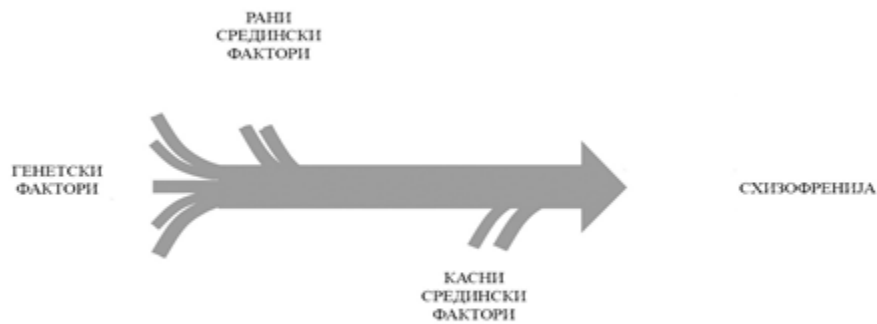


Схема 4. Етиолошки фактори за настанак схизофреније (модификовано из Ellenbroeak i sar, 2003)

1.3. Матернална депривација као модел раног стреса

Матернална депривација представља термин који је у употребу увео енглески психијатар и психоаналитичар, John Bowlby, како би описао ефекте одвајања одојчади и мале деце од мајки (Holmes, 1993). Bowlby је своју теорију засновао посматрањем деликвентне и афективне деце смештене у домовима за незбринуту децу или болницама у послератној Европи. Своју теорију је и објавио 1951. године у облику монографије о значају матерналне неге и њеном утицају на ментално здравље деце (Bowlby, 1951).

Bowlby је поставио еволуциону теорију везаности (*attachment*) по којој деца долазе на свет биолошки препрограмирана да остваре везе са другима, јер ће им то помоћи да преживе. Bowlby је сматрао, да је понашање везивања инстинктивно и да ће се активирати условима који прете да угрозе остваривање блискости као што су одвајање, несигурност и страх. Он, такође, хипотетише да и деца и мајке имају природну, биолошку потребу да остану у контакту једна са другом (Bowlby, 1951). Bowlby сматра да дете у почетку остварује само једну везу и да везаност за ту примарну фигуру делује као база за истраживање света. Однос који се остварује између детета и фигуре са којом остварује примарну блискост представља прототип будућих друштвених односа и свако ремећење истог води озбиљним последицама. Bowlby указује и на то, да постоји урођена потреба детета да оствари посебну врсту блискости са једном особом (монотропија) која јој пружа негу и прехрану је, а та особа је најчешће мајка (Bowlby, 1951).

У менталном развоју детета кључне су прве две или три године живота. Студије показују да деца која су у том периоду била матернално депривирана чешће развијају емотивне, менталне, социјалне али и соматске тегобе. Ова деца су вулнерабилна група за коју је показано да у већем проценту оболевају од аутизма, депресије или схизофреније као адолесценти или одрасле особе (Sackett, 1972b).

Упркос важности које генетски фактори имају у детерминисању понашања одраслих, све се већи значај придаје факторима животне средине у развоју мозга (Caspi i Moffitt, 2006; Кнафо i Jaffee, 2013). Од перинаталног периода и током првих година постнаталног живота мозак се убрзано развија и веома је осетљив на утицај спољашњих искустава, како позитивних тако и негативних. Постоје убедљиви докази да излагање стресу током

пренаталног или раног неонаталног живота може да измени развој и створи предиспозицију код појединца за стицање доживотних здравствених проблема, укључујући и менталне болести (Vale i sar, 2010). Клиничке студије показују да постоји веза између раних негативних искустава и повећаног ризика за развој менталних поремећаја (Kendler i sar, 2002; Morgan i Fisher, 2007).

Животињски модели дали су нам бројне доказе који подржавају узрочно-последичну везу између раног животног стреса и психопатологије (Heim i Nemeroff, 2001; Teicher i sar, 2006). Развој мозга започиње током трудноће (пренатално) и наставља након рођења кроз рани постнатални период, адолесценцију и одрасли период кад се постиже сазревање мозга. Међутим, развој мозга није јединствен процес, већ дисконтинуиран и карактерише се регионалном асинхронијом у развоју (Giedd i sar, 2009).

Време развоја мозга разликује се од једне регије до друге, као и између различитих нервних супстрата, тј. неуротрансмитерских система и централних ендокриних кругова. Ови прекиди у развоју мозга су део тзв. критичних периода развоја мозга, тј. периода повећане осетљивости на различите стимулусе који су специфични за сваки регион у мозгу или неуротрансмитерски систем. Међу критичним периодима, рани постпорођајни период сматра се, код анималних модела, високо сензитивним периодом. Изложеност стресном догађају током постнаталног периода може да поремети програмирани развој мозга, чиме се мењају мождане матурационе критичне тачке, а тиме повећава ризик за аберантна понашања која могу довести у одраслом периоду до психопатологије (Andersen i sar, 2008; Marco i sar, 2011; Meyer i Feldon, 2010).

Животињски модели су од суштинског значаја да схватимо промене у морфологији можданих структура услед деловања различитих срединских фактора током периода развоја. Испитивања на животињама допуњују хумане опсервационе и лонгитудиналне научне студије, на основу чијих сазнања се могу направити релевантне стратегије лечења поједине неуропсихијатријске поремећаје (Branchi i Cirulli, 2014; Cirulli i sar, 2009; Nestler i Numan, 2010; Teicher i sar, 2006). Широко је спектар анималних модела раног животног стреса и велики број њих проучава нарушавање природног баланса и обрасца развоја који

се стварају у интеракцији између мајки и младунаца пацова или мишева (Cirulli i sar, 2009; Marco i sar, 2009). Код глодара, одвајање од мајке у раном постнаталном периоду, између 2 - 14 постнаталног дана (ПНД) води поремећајима неуроразвоја који у адолесцентном периоду симулирају промене понашања сличне хуманим неуропсихијатријским обољењима (Nishi i sar, 2014)

Узимајући у обзир висок проценат обољевања у насталим условима, неопходност истраживања у овој области, навела је истраживаче да из етичких разлога направе анималне моделе који симулирају околности настанка, али и промене у структури и функцији ЦНС-а. Данас је матернална депривација као анимални модел психијатријских болести, примарно схизофреније, опште прихваћена.

Матернална депривација (МД) као анимални модел подразумева рано одвајање младунаца (најчешће 9. постнаталног дана) од мајке на период од свега 24 часа. Рани стрес, каква је матернална депривација, омета развој мозга и води модификацији како понашања тако и бројних неуробиохемијских и морфолошких параметара. МД, као облик стреса, појачава неуроендокрину функцију и тако утиче на понашање и емоције. МД код експерименталних животиња доводи до смањења телесне тежине, утиче на измене у метаболизму и мења имуни одговор (Масо i sar, 2015). Такође, су доступни подаци који показују да МД доводи до морфолошких измена мозга услед дегенерације неурона или пролиферације астроцита, а посебно у префронталном кортексу, хипокампусу, и лимбичком систему уопште, услед њихове посебне осетљивости на неонатални стрес (Масо i sar, 2015). ПНД 9 и 10 су од кључног значаја за регулисање понашања, метаболизам и успостаљање енергетске хомеостазе.

Матерналну депривацију не треба искључиво посматрати као модел сепарационог стреса, већ као комбинацију више различитих стресора. Недостатак мајчинске бриге током периода од 24 часа игра кључну улогу, јер је доказано да се нега мајке као и додир повећавају одмах након поновног спајања легла и мајки односно повећава се фреквенца лизање - тимарење обрасца, што представља брану или шаблон одбране од негативних последица одвајања од мајке (Llorente-Berzal i sar, 2011). Недостатак хранљивих материја током читавог периода депривације игра једну од кључних улога. Драматичан пад нивоа лептина, чији је главни извор у овом узрасту мајчино млеко, описан је заједно са

значајном хипогликемијом током МД (Viveros i sar, 2010a). МД утичу и на понашање мајки, па и на производњу млека (Ellenbroek i Cools, 2002), пружајући додатни нутритивни фактор који може да објасни неке од ефеката МД. Смањење телесне температуре, хипотермија због незрелог терморегулаторног система код новорођенчади, може дати свој допринос поремећају неуроразвоја. Заправо, одавно је познато да температура јесте од кључног значаја за посматрање неких ефеката раздвајања од мајке, односно показује сличности са одговором на апликовање активне супстанце као што је амфетамин (Zimmerberg i Shartrand, 1992).

Избор временског прозора, тј. посебне старосне доби у којој се младунци лишавају присуства мајки је од кључног значаја за успешност експеримента. Само ако се МД врши у 9. ПНД протокол је ефикасан као анимални модел раног животног стреса. Студија Ellenbroak и сарадника (1998), показује да је поремећај препулсне инхибиције најјачи када је МД изведена 9. ПНД у односу на МД 3. и 6. ПНД. У складу са тим, у новијој студији, показано је да је оштећење емоционалних дугорочних потенцијала (МТП) повећано само код адолесцентних животиња изложених МД у 9. ПНД, а не и у 4. и 18. ПНД. Слично томе, само животиње изложене МД у 9. ПНД имају дуготрајно смањење телесне тежине (Gruss i sar, 2008). У новије време, забележени су и ћелијски ефекти МД посебно ако се МД догодила 9. ПНД (Xu i sar, 2011), што неизоставно води изменама и у структури и функцији појединих можданих региона у којима се промена одиграла. Стога се може сматрати да је матерна депривација ефикасан модел експерименталног проучавања учинка раног стреса на морфологију структура осетљивих на исти, као што су лимбичке структуре.

1.4. Интернеурони

На основу обима аксона, тј. удаљености од тела неурона до завршетка аксона, нервне ћелије се могу поделити у два основна типа: дугоаксонске неуроне (Golgi тип-I неурони) и краткоаксонске неуроне (Golgi тип-II неурони) (Stefanović i sar, 2003).

Краткоаксонски неурони тј. Golgi тип II неурони представљају интернеуроне или интернунцијалне неуроне, који се формирају нешто касније током пренаталне неурогенезе. Ови неурони могу градити синапсе са телима, неуритима или дендритима како суседних краткоаксонских неурона тако и пројекционих, дугоаксонских неурона (Golgi тип-I). Соме интернеурона могу бити различитог и веома неспецифичног облика (стелатног, полигоналног, стелатно-фузиформног и фузиформног), као и њихова аксонска арборизација (котараста и свећњаста интернеурони) (Stefanović i sar, 2003).

Интернеурони ће унутар сивих маса ЦНС-а градити локалне неуронске мреже и неуронска кола па се сматра да ови неурони формирају неку врсту хистофизиолошког “матрикса” нервних формација и центара. Интернеурони могу формирати синапсе са неуронима Golgi тип I тј. пројекционим неуронима или другим интернеуронима делећи тако локалне неуромреже на субдомене. Интернеурони су по својој функцији најчешће инхибиторни неурони, те се још називају и контролни интернеурони, док на основу морфолошких специфичности могу бити: дендритички мултиполарни- кошараста (basket), хипоспинозни или аспинозни стелатно-полигонални неурони; свећњаста (chandelier), углавном аспинозни полигонални неурони; неуроглијаформни или неурони облика паукове мреже (spider web), мали стелатни аспинозни неурони. Инхибиторни интернеурони су присутни у скоро свим сегментима ЦНС-а (Stefanović i sar, 2003).

Калцијум-везујући протеини и неуропептиди користе се данас као молекуларни маркери којима се могу диференцирати поткласе интернеурона (Ascoli i sar, 2008; Markram i sar, 2004; De Felipe, 1997; Kawaguchi i Kubota, 1997). Студије на мозданом ткиву пацова и мишева сугеришу да су међу интернеуронима најбројнији они интернеурони који су обележени калцијум-везујућим протеином парвалбумином (PV+), калретинином (CR+) и калбиндином (CB+).

Парвалбумин-позитивни интернеурони (PV+) представљају приближно 40 % GABA-ергичких интернеурона (Rudy i sar, 2011). Ова субпопулација интернеурона припада „fast-spiking“ неуронима (Gibson i sar, 1999; Ascoli i sar, 2008; Kawaguchi i Kubota, 1997). Додатно, ови интернеурони имају најмањи улазни отпор на својим мембранама и најбржу временску константу мембране од свих интернеурона (Markram i sar, 2004; Connors i sar, 1990; Goldberg i sar, 2008). Парвалбумин је претежно експримиран на мембрани свећњастих (chandelier) и кошарастих (basket) неурона (Gibson i sar, 1999). Далеко више се данас зна о кошарастим интернеуронима који остварују синапсе на соми и дендритима циљних неурона и обично имају мултиполарну морфологију (Kawaguchi i Kubota, 1997). Неколико студија је показало да су кошарасте интернеурони доминантни инхибиторни интернеурони у неокортексу, где учествују у брзој инхибицији циљаних неурона (Pinto i sar, 2000; Miller i sar, 2001; Pouille i sar, 2001). Ови интернеурони вероватно играју велику улогу у регулисању равнотеже између ексцитаторних и инхибиторних информација у možданој кори (Hasenstaub i sar, 2005; Haider i sar, 2009). Много мање се зна о другој подгрупи PV+ интернеурона, тј. о свећњастим ћелијама (chandelier). Свећњасте ћелије синапсирају се са иницијалним сегментом аксона принципалних неурона (Gibson i sar, 1999; Kawaguchi i Kubota, 1997). Неколико студија, сугерише да за разлику од других интернеурона свећњасте ћелије могу бити и инхибиторне и ексцитаторне због деполаризујућег ефекта који остварују над мембранским потенцијалом (Xu Q i sar, 2009; Szabadics i sar, 2006).

Калцијум-везујући протеин калбиндин (CB) експримиран је на *double bouquet* и *Cajal-Retzius* неуронима. Ови интернеурони спадају у групу трноликих неурона ниског прага („low threshold spine“). Калбиндин-позитивни (CB+) интернеурони повезани су преко електричних синапси и играју улогу у синхронизацији инхибиторне активности. Калбиндин показује колокализацију са парвалбумином (de Rio i De Felipe, 1997) и то у проценту од 14% у темпоралном кортексу код људи, а чак 25% у базолатералном једру амигдалоидног комплекса код пацова (Mascagni i sar, 2009). Студије показују да ова субпопулација интернеурона поседује већу склоност ка дегенерацији (Ferrer i sar, 1993). Калбиндин-позитивни интернеурони синапсирају се са аксонима пирамидалних неурона (Benes i Berretta, 2001).

Калцијум-везујући протеин калретинин (CR) експримиран је на биполарним ћелијама, *double bouquet* и *Cajal-Retzius* неуронима (Soriano i Del Rio, 2005) и спада у групу „regular spiking“ интернеурона (Kawaguchi i Kubota 1997; Kawaguchi i Kondo, 2002). Показано је да постоје две подгрупе калретинин-позитивних интернеурона (CR+), мултиполарни и биполарни. Мултиполарни калретинин - позитивни интернеурони заједно са парвалбумин-позитивним интернеуронима остварују инхибиторни ефекат над неуронима, док биполарни калретинин - позитивни интернеурони делују као „дезинхибишући“ интернеурони, јер ослобађају пирамидалне неуроне инхибиције (Caputi i sar, 2009). Калретинин-позитивни интернеурони остварују синапсе са парвалбумин и калбиндин - позитивним интернеуронима и тако спадају у групу дезинхибиторних интернеурона. Калретинин - позитивни интернеурони углавном инервишу дендрите циљаних неурона, тачније инервишу дендритско тело, а мање дендритску бодљу или сому (Meskenaite, 1997). Између калретинин-позитивних интернеурона формирају се електричне синапсе које синхронизују активност повезаних интернеурона, а затим модулирају активност других поткласа интернеурона као и пирамидалних неурона (Caputi i sar, 2009). Поједине студије, спроведене над глодарима показују да биполарни калретинин-позитивни интернеурони могу бити и „irregular spiking“ интернеурони што подразумева да ће почетни проток акционог потенцијала бити праћен прекидима (Cauli i sar, 2000; Porter i sar, 1998).

Данас постоје бројни докази који указују да поједине психијатријске и неуролошке болести настају као последица дисфункције интернеурона у различитим регионима мозга. С обзиром да је њихова функција најчешће инхибиција ексцитације, поремећај у њиховом деловању доводи до широког спектра симптома психијатријских обољења (Marin, 2012).

1.5. Допаминаергички систем

У централном нервном систему постоји неколико допаминаергичких путева. Нигростријатни пут преноси око 70% допамина кроз ЦНС. Соме неурона у овом путу смештене су у *substantia nigra pars compacta*, *caudatus*-у, *putamen*-у, *globus pallidus*-у. Ови неурони карактеришу се обимном дендритском арборизацијом која се вентрално шири и у *pars reticularis substantiae nigrae*. Мезолимбички допаминаергички пут полази из вентралне тегменталне области (VTA) и инервише *tuberculum olfactorium*, *nucleus accumbens*, *septum*, амигдалу и суседне мождане структуре као што су медијални фронтални кортекс, предњи цингулатни кортекс, енториално поље, периринално поље и пириформну област. Тубероинфундибуларни допаминаергички пут преноси допамин из *nucleus arcuatus*-а и перивентрикуларног једра хипоталамуса до средњег једра хипофизе и *eminencia mediana*-е. Допамин се из ових неурона ослобађа у портну циркулацију и регулише секрецију пролактина преко инхибиторног D2 рецептора на нанотропним ћелијама (Goldman-Rakic, 1998).

Синтеза допамина започиње у допамин-ослобађајућим ћелијама конверзијом тирозина у L-3, 4-дихидрокипхенилаланине (L-DOPA). Реакција конверзије је катализована ензимом тирозинхидроксилазом (ТН) који има ограничену брзину. L-DOPA затим конвертује до допамина уз помоћ декарбоксилазе (ензима л-ароматичне аминокиселине) (Larnelle i sar, 2000).

Тирозинхидроксилаза (ТН) је ензим који се састоји из четири идентичне субјединице. За деловање овог ензима неопходни су јони гвожђа, као и кофактори кисеоник и тетрахидробиоптерин. Само један ген тирозинхидроксилазе кодира четири изоформе овог ензима код људи. Изоформе овог ензима настају као производ алтернативног спајања примарног транскрипта. Тирозинхидроксилаза је присутна у две форме, цитоплазматској (растворљивој) и мембранозној. У стандардним условима тирозинхидроксилаза је засићен битирозин (Larnelle i sar, 2000).

Уочено је да поједини фармаколошки агенси могу блокирати активност тирозинхидроксилазе, што има већег ефекта на екстрацелуларни ниво допамина него блокирање DOPA-декарбоксилазе фармаколошким агенсима. Ово указује на чињеницу да

је корак који одређује брзину синтезе допамина управо хидроксилација тирозина у L-DOPA-у путем тирозинхидроксилазе. Повећавање нивоа тирозина путем дијететских модификација може регулисати синтезу допамина. Конверзија L-DOPA-е у допамин путем β - хидроксилазе резултат је уклањања хидроксилазне групе и захтева присуство пиридоксал 5 - фосфата (витамин Б6) као кофактора. Синтеза допамина може се регулисати на различите начине. Инхибиција крајњег производа је главни регулатор синтезе допамина када су допаминска неуронска активност и ослобађање ниски. Насупрот томе, када су допаминергичка влакна електрично стимулирана, активност тирозинхидроксилазе је повећана. Ово побољшање је изгледа последица боље функције супстрата ензимске кинетике у делу који подразумева фосфорилацију тирозинхидроксилазе. Резултат је смањење афинитета тирозинхидроксилазе за допамин, што замењује реакцију инхибиције крајњег производа (Sibley i sar, 1998).

Постоје два механизма ослобађања допамина. Први је калцијум-зависан, тетродотоксин (ТТКС) - сензитиван и подразумева ослобађање допамина из везикула на аксонском терминалу након акционог потенцијала. Други механизам је калцијум и ТТКС независан и јавља се након администрације лекова који мењају правац допаминског транспортера (DAT). Под нормалним условима, DAT носи допамин из екстрацелуларног простора назад у терминални регион аксона. Унутар аксонског терминала допамин је смештен у три одељка. Два од њих су везикуле, једна садржи новије синтетисан допамин, а друга дуже депоновани. Постоји и цитоплазматски пут допамина који представља допамин који је свеже везан за допамински транспортер (DAT) (Sibley i sar, 1998).

Инактивација допамина постиже се комбинацијом поновног преузимања и ензимским катаболизмом. Преузимање допамина је енергетски зависан процес и захтева натријум хлорид (NaCl). Катаболизам се одвија кроз два ензимска пута. Скоро 90% катаболичког процеса у мозгу пацова одиграва се у стријатуму и то путем моноаминоксидазе (MAO). Код људи, ниво хомованилне киселине у цереброспиналној течности, одражава допаминергичку активност. Катаболизам интранеуралног допамина код пацова може се пратити путем нивоа 3, 4 дихидроксифенилацетилне киселине (Vallone i sar, 2000).

Биохемијска и фармаколошка истраживања указују на постојање два основна типа допаминских рецептора диференцирана на основу везе са G протеином: D1 рецептор који

стимулише аденилат циклазу преко Gs протеина и D2 рецептор који инхибира аденилат циклазу путем Gi протеина. Техникама молекуларног клонирања показано је да постоји пет гена за допаминске рецепторе који кодирају седам трансмембранских рецептора. Према структури подељени су на: D2-сличне рецепторе (D2 - D4) и D1 - сличне рецепторе (D1 и D5). *In situ* хибридизацијом код пацова и код људи, одређена је локализација допаминских рецептора у мозгу. D1 рецептори присутни су у *caudatus*-у, *nucleus lentiformis*-у, *nucleus accumbens*-у и *tuberculum olfactorium*, у мањем броју у латералном *septum*-у, *bulbus olfactorius*-у, хипоталамусу и кортексу. D5 рецептори локализовани су у хипокампусу и парафасциоларном једру таламуса. Највећа концентрација D2 рецептора присутна је у *neostriatum*-у, *tuberculum olfactorium*-у, *substantia nigra*, вентралној тегменталној области и *nucleus accumbens*-у. D3 рецептор присутан је у лимбичком систему у *nucleus accumbens*-у, постелном једру *striae terminalis*, хипокампусу, *corpus mammilaris*-у и *substantii nigri*. D4 рецептори присутни су у *bulbus olfactorius*-у, хипоталамусу, таламусу, а у мањем броју и у хипокампусу, кортексу и базалним ганглијама. Поједине електрофизиолошке и неуробиохемијске студије показују да у *striatum*-у постоји коекспресија D1 и D2 рецептора на истом неурону. Пресинаптички допамински рецептори локализовани на аксонском терминалу служе као ауторецептори и регулишу синтезу и ослобађање допамина (Sibley i sar, 1998).

Бројне су студије које указују на улогу допамина у настанку неуропсихијатријских болести, међу којима је и шизофренија. Докази произлазе из *post mortem* хистолошких / биохемијских студија, испитивања структурних промена или фармаколошких студија тј. испитивањем утицаја лекова на повећање или смањење трансмисије допамина преко његових рецептора.

1.6. GABA-ергички систем

Приближно 30 % неурона у мозгу производи GABA-у а скоро сваки неурон даје одговор на исту. GABA-у производе и неке ћелије које нису неурони, као што су ендокрине ћелије панкреаса и репродуктивног тракта. GABA делује везивањем за GABA-ергичке рецепторе, који се налазе и на пресинаптичким и постсинаптичким ћелијама, на хиперполаризованој ћелији и тако доводи до инхибиторног ефекта. У неким околностима GABA може довести до ексцитаторног ефекта, тако што врши деполаризацију ћелијске мембране. Ексцитаторни ефекти GABA-е забележени су у развојном периоду, а у глодара у nucleus suprachiasmaticus-у, ексцитаторни ефекат повезан је са циркардијалним ритмом. Поред неуротрансмисије GABA, делује и као сигнални молекул током развоја, како у ЦНС-у, тако и на другим местима у ембриону. У ЦНС-у, GABA утиче на миграцију ћелија, екстензију неурита, диференцијацију и формирање синапси. GABA утиче и на деловање стероидних хормона у мозгу. Ван ЦНС-а, GABA је повезана са развојним функцијама, као што је формирање непца. Промена у производњи, деградацији, одговору и промету GABA-е имају огромне последице и воде бројним неуропсихијатријским болестима (Martin i Olsen, 2000).

GABA настаје декарбоксилацијом глутамата уз помоћ ензима глутамат декарбоксилазе (GAD) који катализује ову реакцију. Обавезан кофактор за GAD јесте витамин Б6. GABA се може синтетисати и из орнитина преко орнитин декарбоксилазе, али у много мањем проценту. Ензим GAD састоји се од хомодимера од два различита полипептида GAD65 и GAD67, који су производ различитих гена и разликују се у секвенци за око 35%. Ова два гена имају идентичне “ексон – интрон” организације. GAD65 код људи, мишева и пацова су 97% идентични. Скоро сваки неурон производи оба облика GAD-а. У току развоја специфичних области ЦНС-а обично се примарно појављује GAD67. GAD65 и GAD67 разликују се у субцелуларној локализацији, па се GAD65 више концентрише у аксонском терминалу, а GAD67 у соми неурона. GABA-трансаминаза (GABA-T) је главни деградативни ензим за GABA-у, иако у стабилном стању концентарцију GABA-е обично контролишу GAD ензими. GABA-T, митохондријални ензим, деградира GABA-у на сукцински семиалдеhid (SSA) (Jursky i sar, 1994).

Постоје две класе GABA рецептора, GABA A рецептори, који се налазе на постсинаптичким ћелијама и производе брзе (у милисекунди) одговоре, и GABA B рецептори, који се налазе и на пре и на постсинаптичким ћелијама и производе спорије одговоре који зависе од секундарног гласника. Трећа класа GABA рецептора, GABA C рецептори, је јонотропска и сматра се подскупом GABA A рецептора. Највећи број неурона експримира GABA A рецепторе који су заправо хлоридни канали и налазе се на постсинаптичкој мембрани. Након везивања GABA-е канал се отвара и хлорид тече пратећи његов концентрациони градијент. Резултат уласка хлорида у ћелију је хиперполаризација на постсинаптичком делу мембране са пратећом инхибицијом ћелија. GABA B рецептори су смештени на пре и постсинаптичкој мембрани. GABA B рецептори су G протеин-рецептори која интерагују са бројним протеина на K⁺ и Ca²⁺ каналима, као и са аденилат-циклазом. Они припадају метаботропним рецепторима класе C. GABA се активно транспортује уз помоћ GABA транспортера (GAT). Четири GAT су идентификован до сада (GAT1-3 и GAT4 или BGT-1) и припадају суперфамилији Na⁺ и Cl⁻ зависних транспортера. GABA је запакована у везикуле на синапси док транспорт кроз мембрану врши везикуларни GABA транспортер (vGAT) (Barnard 1998; Bleins, 2000).

Дефекти у синтези GABA-е, ослобађању или одговору на њено деловање имају озбиљне консеквенце на људски организам. GABA је убиквитаран неуротрансмитер и могло би се рећи да има директно или индиректно учешће у настанку скоро свих неуролошких и психијатријских обољења.

1.7. Холинергички систем

Ацетилхолин је неуротрансмитер који припада групи малих молекула. Ацетилхолин се ствара у једном ензимском кораку. Ензим холин-ацетилтрансфераза (ChAT), катализује естерификацију холина уз помоћ коензима - ацетил-коензима А (acetyl-CoA). Холин-ацетилтрансфераза је ензим који је специфичан само за холинергичне неуроне и није изражен ни у једној другој врсти ћелија. Ацетил-коензим А служи као донор ацетилне групе. Овај коензим синтетише се из пирувата добијеног метаболизмом глукозе. Ацетил-коензим А локализован је у митохондријама, док је холинацетилтрансфераза локализована у цитоплазми и као таква у морфолошким студијама служи за идентификовање холинергичких неурона. Да би се реакција естерификације холина одиграла у аксонском терминалу, ацетил-коензим А мора да напусти митохондрију и стигне у цитоплазму. Иако је холинацетилтрансфераза једини ензим укључен у реакцију стварања ацетилхолина она није ограничавајући фактор брзине реакције. Формирање ацетилхолина је ограничено количином интрацелуларног холина. Холин се не ствара у нервном ткиву већ се допрема кроз цереброспиналну течност из залиха или се поново преузима из синаптичке пукотине. Настали ацетилхолин складишти се у везикуларни холинергички транспортер (VAChT). Примарни начин инактивације ацетилхолина је једноставна хидролиза ацетилхолина у холин и ацетат, путем две групе холинестераза: ацетилхолинестераза и бутирилхолинестераза. Ацетилхолинестераза примарно је присутана у мозгу, док је бутирилхолинестераза присутна у малим концентрацијама у мозгу, а у знатно већим у јетри (Taylor i Brown, 2006). Ацетилхолинестераза се налази у високим концентрацијама у холинергичким неуронима, али и у неким нехолинергичким неуронима који примају холинергички инпут. Ово запажење доводи се у везу са чињеницом да је секретовани ензим везан за ћелијску мембрану. Хидролиза ацетилхолина дешава се екстрацелуларно у синаптичкој пукотини и везана је са високим афинитетом поновног преузимања холина интрацелуларно како би био искоришћен за поновну синтезу ацетилхолина. Ацетилхолин може имати екситаторно или инхибиторно дејство (Purves i sar, 2001).

Ацетилхолин своје дејство остварује преко две врсте рецептора: никотинских и мускаринских. Никотински рецептори, добили су назив по никотину, који у ЦНС стимулише осећај еуфорије, релаксације али и зависности, те стимулација ових рецептора

води истим осећајима. Ови рецептори су јонотропни, што значи да везивање ацетилхолина отвара јонске канале за пролаз Ca^{2+} и Cl^- јона из екстра у интрацелуларни простор и деполаризације ћелије. Никотински рецептори примарно се налазе у неуромускуларној спојници скелетних мишића, али и у ганглионима аутономног нервног система и ЦНС-у. Мускарински рецептори су стимулирани гљивичним отровом мускарином. Ови рецептори су метаботропни и везани за G-протеин, а своје дејство остварују активирањем других секундарних месинџера, који затим активирају бројне биохемијске процесе у постсинаптичким неуронима. Мускарински рецептори су локализовани у темпоралном режњу, striatum-у и другим регионима великог мозга у којима врше инхибицију моторног одговора посредованог допамином, али учествују и у процесу памћења.. Постоји пет подтипова мускаринских рецептора, од који су M1, M3 и M5 ексцитаторни и воде деполаризацији ћелије, а M2 и M4 инхибиторни, ауторецептори и воде хиперполаризацији исте (Purves i sar, 2001).

У ЦНС-у, холинергички неурони шаљу своје аксоне из предњег мозга ка амигдали и хипокампусу и играју важну улогу у процесу учења и памћења, а њихов поремећај води неуропсихијатријским болестима, као што је шизофренија и Алцхајмерова болест. Такође, холинергичке неуроне у ЦНС-у можемо локализовати у *putamen*-у, *caudatus*-у, *nucleus accumbens*-у, *bulbus*-у и *tuberculum-у olfactorium*-у, хипокампусу, кори великог мозга, хипоталамусу и кичменој мождини. Холинергичке пројекције (аксоне) из магноцелуларног базалног једра детектујемо у *nucleus septalis*-у, *nucleus tractus diagonalis-Broca*, *substantii innominati* и *nucleus basalis-Meynerti* (Purves i sar, 2001).

2. ЦИЉЕВИ

Лимбички систем, као део централног нервног система, представља комплексну целину одговорну за емотивно, афективно и сексуално понашање, процесе памћења и регулисање аутономних функција. Лимбички систем је предложен као могући фокус патолошких промена насталих код оболелих од шизофреније.

Морфометријске студије пацијената оболелих од шизофреније указују на губитак сиве масе у различитим можданом структурама. Поремећај веза у шизофренији има неуроанатомску подлогу у смислу неадекватних веза између неурона једне зоне, као и поремећаја комуникације између већег броја зона. Такав вид поремећаја праћен је и изменама на нивоу неуротрансмитерских система што може утицати на испољавање поремећаја психотичне природе. Посебна улога у патогенези шизофреније се приписује допамину шизофрених пацијената, но у патогенези шизофреније потврђена је улога и других неуротрансмитера (GABA-е, серотонина, глутамата, ацетилхолина, норадреналина).

Анимални модели значајно доприносе испитивању механизма који се налазе у основи хуманих болести као и у осмишљавању нових третмана. Један од ових модела је и модел матерналне депривације (МД) у којем се младунци пацова одвајају од своје мајке у неком периоду после рођења. Већина актуелних студија показује да излагање сисара раном стресу у току живота, као што су матернална депривација или социјална изолација, негативно утичу на развој мозга и понашање у одраслом добу.

Претходним истраживањима је показано да одвајање од мајке у раном периоду после рођења доводи до најразличитијих промена у понашању пацова, као што је нарушавање препулсне инхибиције акустичког надражаја, које се може привремено поправити третманом антипсихотицима и које подсећа на симптоме шизофреније код људи. Поред овога, одвајање од мајке доводи до промена у синаптичкој пластичности и неурохемизму који је често повезан са неуропатологијом шизофреније.

1. Испитати утицај МД на морфологију лимбичких структура мозга пацова мерењем волумена лимбичких структура мозга пацова.
2. Испитати утицај МД на број и величину тела неурона у лимбичким структурама мозга пацова обележеним неуроналним маркером (NeuN позитивне ћелије).
3. Испитати утицај МД на инхибиторни систем одређивањем броја и величине тела неурона који експримирају калцијум везујуће протеине (парвалбумин, калретинин и калбиндин) у лимбичким структурама мозга пацова.
4. Испитати утицај МД на допаминергички систем одређивањем густине допаминергичких тирозинхидроксилаза позитивних влакана у лимбичким структурама мозга пацова.
5. Испитати утицај МД на холинергички систем одређивањем броја и величине тела холинергичких неурона као и густине холинергичких влакана у лимбичким структурама мозга пацова.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Експерименталне животиње

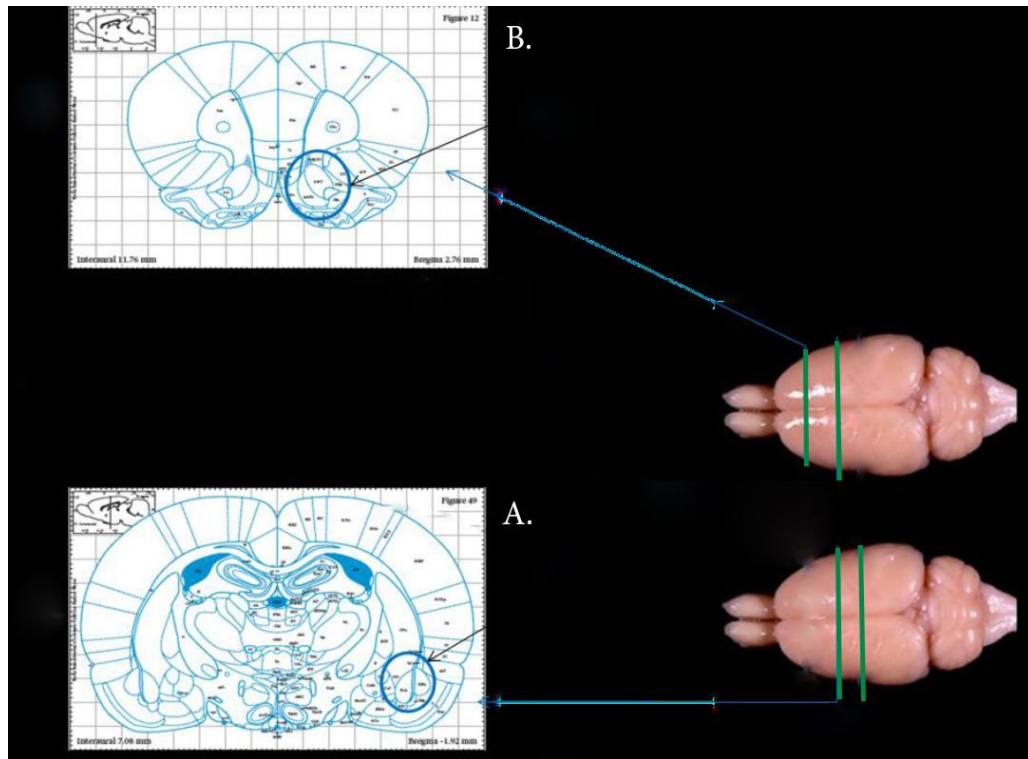
У експеримантима су коришћени пацови оба пола, соја *Wistar* који су узети из узгајалишта Института за биомедицинска истраживања Галеника у Београду.

3.2. Третирање животиња

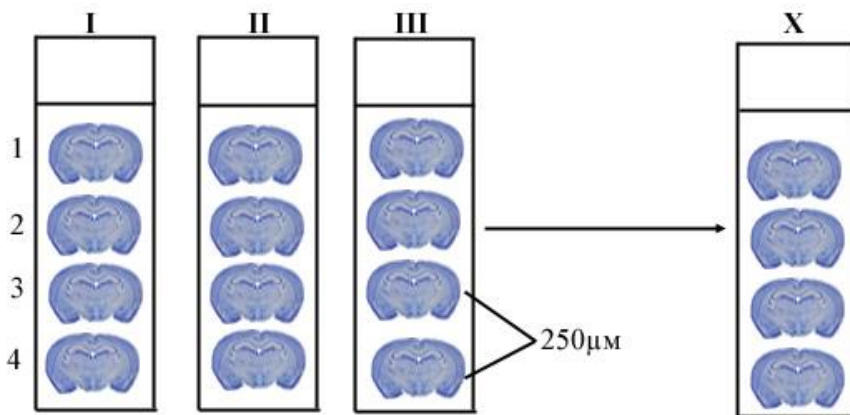
Мужјак и четири женке *Wistar* пацова старе три месеца су чувани заједно у стандардном кавезу од плексигласа са пиљевином (26x42x15 cm). Трудне женке *Wistar* пацова су појединачно чуване у кавезима са 12-часовним циклусом светло-мрак. Храна и вода су били доступни *ad libitum*. Дан порођаја је означен као нулти постнатални дан (ПНД 0). Деветог постнаталног дана (ПНД 9) легла су подвргнута матерналној депривацији, при чему су младунци мушког пола били уклоњени из кавеза на 24 часа (Ellenbroek, 1995b; Roseri et al, 2002). Младунцима је измерена телесна тежина након чега су остављени у кавезима на собној температури 24 часа без мајке. Десетог постнаталног дана (ПНД 10) младунцима је опет мерена телесна тежина након чега су враћени у кавез са мајком (експериментална група). У контролној групи младунци су са својом мајком све време уз мерење телесне тежине деветог и десетог постнаталног дана (ПНД 9 и ПНД 10). Након тога младунци нису узнемиравани, осим због рутинског чишћења кавеза, до ПНД 21 када је извршена класификација према полу. За морфометријске студије коришћени су само мужјаци, како би се избегао сексуални диморфизам (Woolley, 1992, Vivinnetto, 2013; Own, 2013). Животиње су жртвоване шездесетог постнаталног дана (ПНД 60). Сви експерименти су у складу Водича за бригу и коришћење Лабораторијских Животиња NIH - National Institute for Health.

3.3. Припрема узорака за имунохистохемију (криопресеци)

За испитивање морфолошких промена у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у је жртвовано по 5 животиња из експерименталне и контролне групе. Животиње су анестезиране 3.6% хлорал хидратом (10 mg/kg i.p.) и затим перфундоване свеже припремљеним 4% параформалдехидом (4°C). Извађени мозгови су остављани 24 h у 4% параформалдехиду после чега су били пребачени у раствор сахарозе (растућег градијента концентрације 10%, 20%, 30%) у 0.1M фосфатном пуферу pH=7.4 (криопрезервација). Након тога, мозгови су тренутно замрзавани на -80°C урањањем у 2-метилбутан (*Fluka Biochemika*), који је претходно охлађен на -80°C. За сечење ткива, каудални пол сваког мозга је причвршћен за криостатски носач коришћењем криостатског медијума (*Kilik*, Италија). Вентрална површина мозга је оријентисана према сечиву и серијски коронални пресеци дебљине 25µм за имунохистохемијске анализе су сечени на криокату *Leica* (*Leica Instruments*, Немачка). Пресеци су сакупљани на *SuperFrost Plus* плочицама (*Menzel Braunschweig*, Немачка). Како стереолошке анализе захтевају бројне пресеке проучаваних структура и употребу серијских пресека, сакупљање пресека је увек вршено на исти начин. На крају на свакој плочици је било по 4 пресека који су међусобно удаљени 250µм (слика 2). Пресеци су до тренутка бојења чувани на -20°C.



Слика 6. Приказ места на којима су начињени пресеци пацовског мозга на удаљености од -2.76mm од брегме за амигдалоидни комплекс (A) и -2.52mm од брегме за *nucleus accumbens* (B), према Атласу пацовског мозга (Paxinos i Watson, 2014).



Слика 7. Стандардизовани начин сакупљања узорака на стакленим плочицама

3.4. Општи протокол за имунохистохемијско бојење

За имунохистохемијско бојење, прво је извршено демаскирање антигена: плочице су инкубирани 30 минута на 80°C (у кивети у воденом купатилу) у 0,01М цитратном пуферу рН=9. По завршетку инкубације, плочице су остављене да се охладе на собној температури. Затим је извршено неспецифично блокирање током 1h на собној температури користећи нормалан козји серум (0,2% Triton X-100, 0,02% NaN₃, 5% нормални козји серум у PBS-у рН=7.3). Након тога, раствор за блокирање је аспириран, а плочице су инкубирани са примарним антителима (24 – 48h на +4°C) која су растворена у PBS-у који садржи 0.5% λ carrageenan (који омогућава бољу пенетрацију антитела кроз релативно дебео исечак) и 0.02% NaN₃. Плочице су инкубирани у добро затвореним влажним коморама. За имунохистохемијска бојења коришћена су следећа примарна антитела: анти-неурон специфично нуклеарно антитело (anti-NeuN, мишје моноклонско, Chemicon, USA, 1:1000), анти-парвалбумин (anti – PV, мишје моноклонско, Sigma-Aldrich, Germany, 1:1000), анти-калбиндин (anti – CB, мишје моноклонско, Sigma-Aldrich, Germany, 1:1000), анти-калретинин (anti – CL, зечје поликлонско, Sigma-Aldrich, Germany, 1:1000), анти-тирозинхидроксилаза (anti-TH, зечје поликлонско, Chemicon, USA, 1:1000), анти-холинацетилтрансфераза (anti- ChaT, зечје поликлонско, Chemicon, USA, 1:1000). Након инкубације, плочице су 3 пута испиране PBS-ом (по 15 мин) пре стављања одговарајућег секундарног антитела. За визуелизацију је коришћен *En Vision Dual Link System-HRP* (DAKO), који садржи секундарна антитела (према примарним мишјим и зечјим антителима) коњугована са пероксидазом рена (*horseradish peroxidase*, HRP). Након реакције са секундарним антителима следила је инкубација (10 минута) са 3,3-диаминобензидином (DAB) који је хромогени супстрат за пероксидазу, што доводи до појаве преципитата браон боје на месту присуства антигена. На крају, пресеци су поново испирани PBS-ом након чега је извршена дехидратација и постављено покровно стакло помоћу DPX-а (Sigma-Aldrich, Немачка). Обојене плочице су чуване у мраку на +4°C.

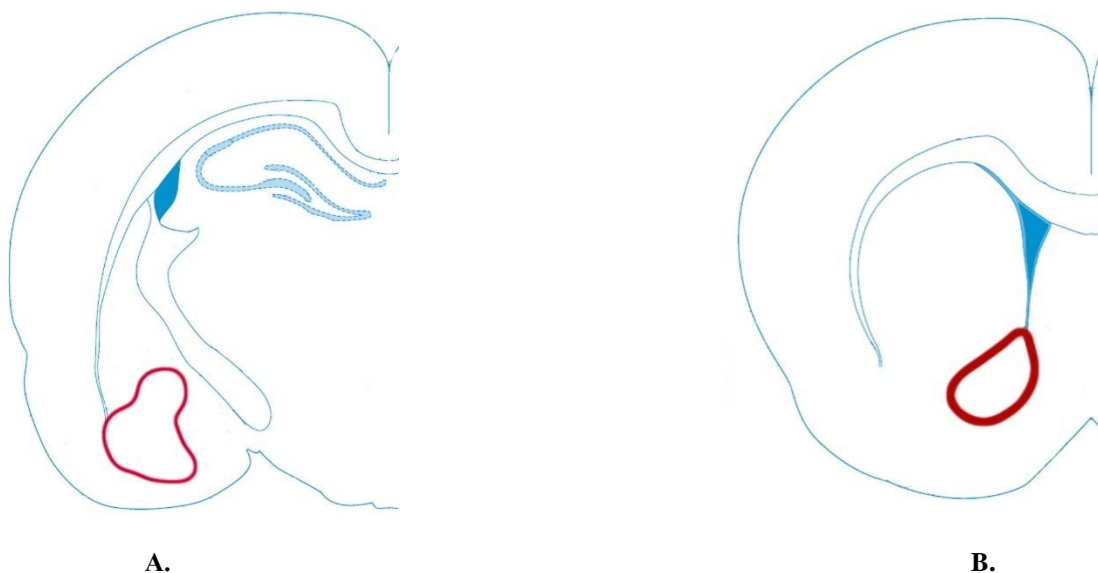
3.5. Морфолошке студије

Морфолошки параметри у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у су одређивани *Image Tool 3.0* и *Image J* софтвером (слободно доступан на <http://www.ddsdh.uthscsa.edu/dig/>) на стереолошким микрографијама.

3.5.1. Одређивање волумена амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens-a*

Принцип Cavalieri методе је коришћен за одређивање волумена амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens-a*. Мерења волумена су вршена билатерално, на удаљености од -2.52mm од брегме за *nucleus accumbens* и -2.76mm од брегме за амигдалоидни комплекс. *Image J software* је коришћен да се на микрографијама, начињеним на увећању 10X на микроскопу Zeiss LSM 510, одреде вредности волумена амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens-a*. Вредности добијене у микрометрима смо сабирали и помножили са 250 (што представља однос од 250 μ m између два пресека на плочици). Добијена вредност је подељена са 10⁹ што представља однос између μ m³ и mm³.

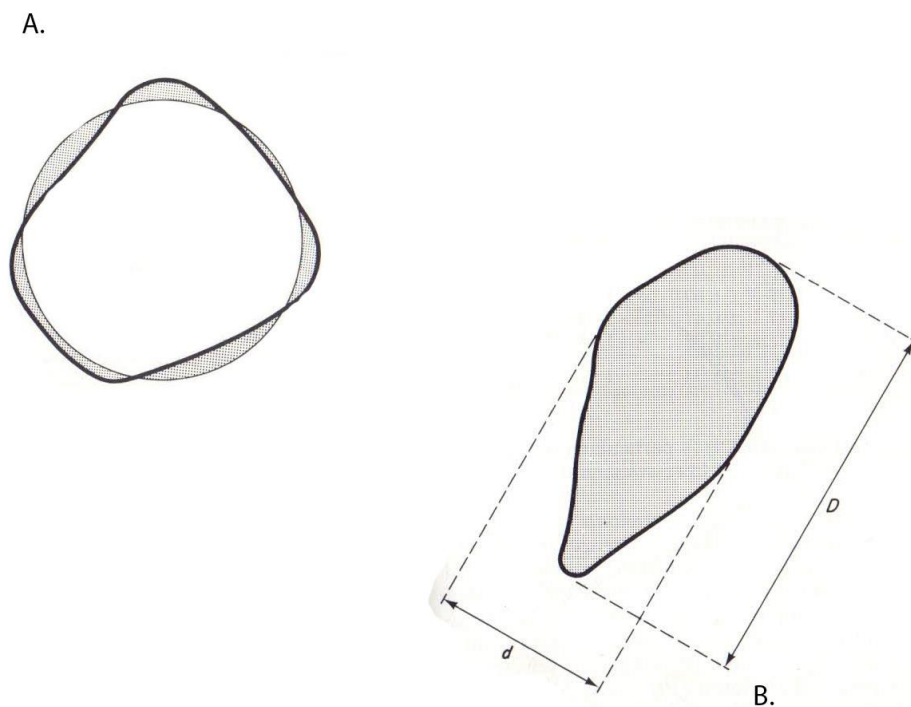
Формула на основу које је вршено мерење: $V = (1+2+3+\dots)*250/1000000000$



Слика 8. На слици је уцртан положај амигдалоидног комплекса (А) (-2.76mm од брегме) и *nucleus accumbens-a* (В) (-2.52mm од брегме) према Атласу пацовског мозга (Paxinos i Watson, 2014).

3.5.2. Квантификација величине тела неурона и интернеурона

Квантификација величине тела неурона и одређених подкласа интернеурона је извршена на претходно усликаним микрографијама на увећању 40X на микроскопу Zeiss LSM 510. Мерење величине тела неурона и интернеурона је вршено у нивоу попречног пресека где су најбоље била видљива неуронска и интернеуронска тела. Неурони и интернеурони су идентификовани према свом положају у одговарајућем региону амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а. Уз помоћ *Image J software* на добијеним микрографијама, неуронска и интернеуронска тела су опцртана, а затим је одређена њихова површина. Сва мерења су рађена билатерално.



Слика 9. Приказ мерења дијаметра тела неурона које по облику одговара сфери (А) по методи Slansky и Herlihy (1978) (В) (D- највећи дијаметар тела неурона; d-најмањи дијаметар тела неурона) (Aherne i Dunnill, 1982).

3.5.3. Квантификација густине неурона и интернеурона

За одређивање густине неурона и појединих подкласа интернеурона направљене су микрографија на увеличању 10X на микроскопу Zeiss LSM 510. Квантификација густине неурона и интернеурона вршена је у регионима амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а где су најбоље била видљива тела неурона и одговарајућих подкласа интернеурона. Неурони и одговарајуће подкласе интернеурона су идентификоване према свом положају у одговарајућем региону амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а. Уз помоћ *Image Tool software*-а на начињеним микрографијама, неурони и интернеурони, чија су једра јасно била видљива на микрографијама, су тачкасто маркирани, а затим је одређен њихов број (Aherne i Dunnill, 1982). Сва мерења су рађена билатерално.

3.5.4. Одређивање густине тирозинхидроксилазних (ТН+) и ацетилхолинских (ChaТ+) влакана

За квантитативну анализу тирозинхидроксилазних (ТН+) и ацетилхолинских (ChaТ+) влакана направљене су микрографије на конфокалном микроскопу Zeiss LSM 510. Густина влакана у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у процењивана је тако што су добијене микрографије преклопљене стандардном С4 стереолошком мрежом и затим анализиране у *Photoshop* програму (Сан Хозе, Калифорнија). Густина влакана по пресеку је израчунавана на основу формуле:

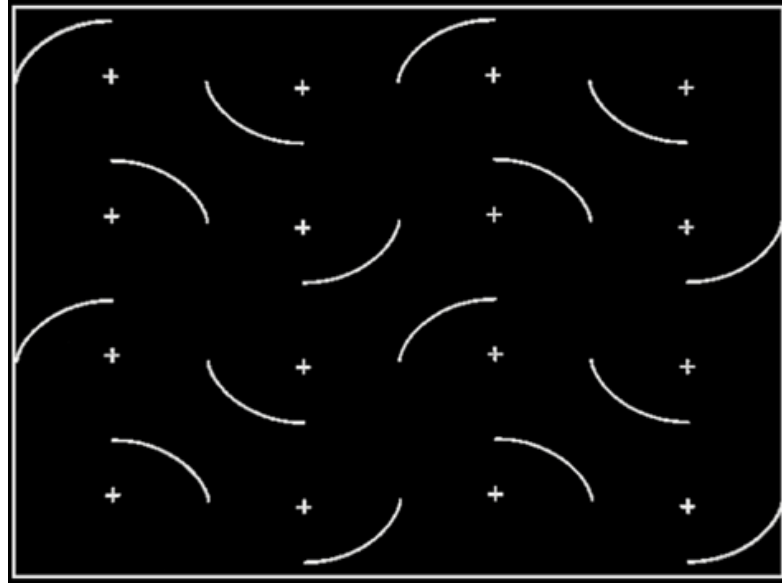
$$L_v = 2 P_l / t,$$

где је t -дебљина пресека, P_l - број избројаних пресека.

Укупна густина влакана одређена је према волумену структуре по формули :

$$TL_v = L_v * V,$$

L_v -густина влакана на микрографији обележеној мрежицом, V - волумен структуре



Слика 10. Стандардна стереолошка мрежица C4 према којој је одређивана густина влакана

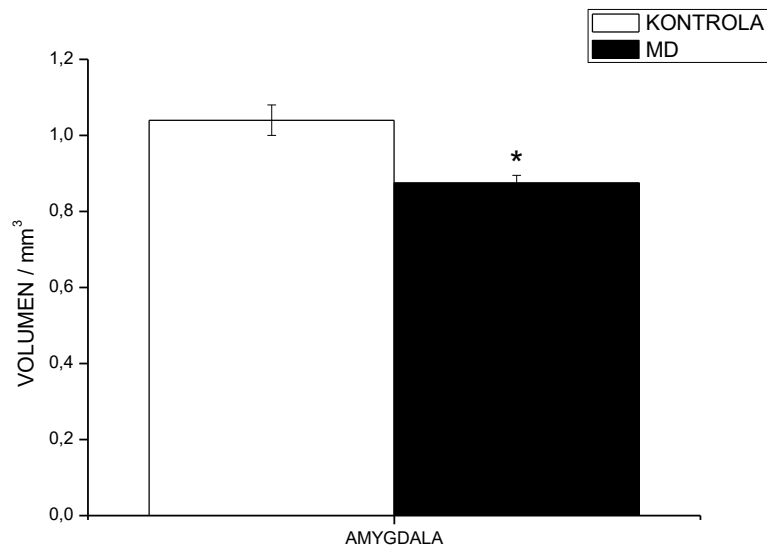
3.6. Статистичка анализа

Статистичка обрада добијених резултата између контролне и експерименталне групе вршена је помоћу програма *Statistica StatSoft*, одговарајућим статистичким тестовима, пре свега Студентовим т-тестом за два независна узорка. Уколико је вероватноћа да је нулта хипотеза („постоји разлика између посматраних величина“) тачна, била једнака или мања од 5% ($p \leq 0.05$), разлика је сматрана за статистички значајну. Резултати су приказани графичким стубичастим дијаграмима. Графички приказ је урађен у програму *OriginPro8*.

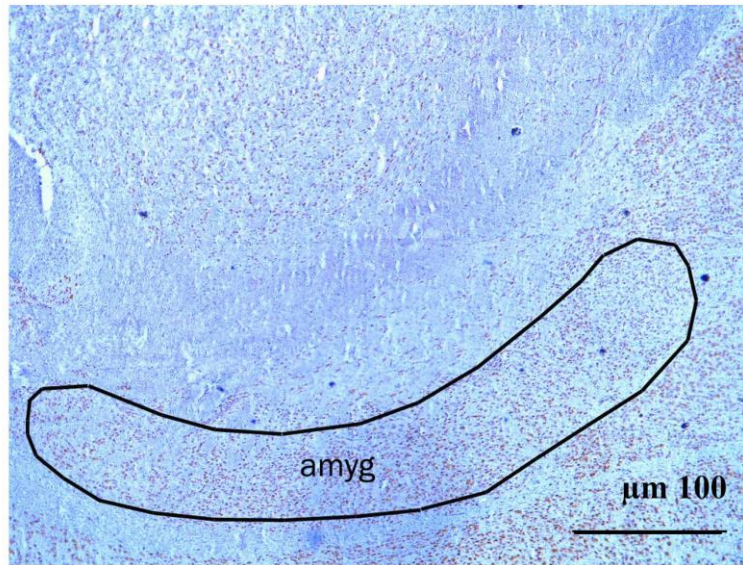
4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Утицај матерналне депривације на волумен амигдалоидног комплекса

Волумен амигдалоидног комплекса мерен је код матернално депривираних и контролних животиња, билатерално. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење укупног волумена амигдалоидног комплекса код матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 1).



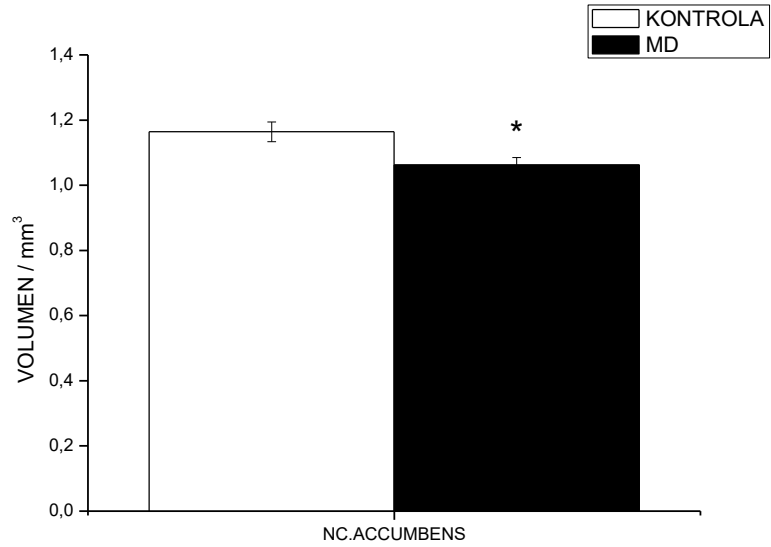
Графикон 1. Волумен амигдалоидног комплекса код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



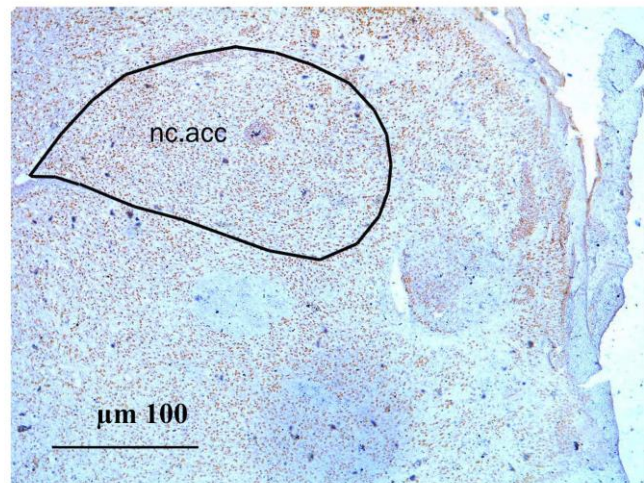
Слика 11. Репрезентативни приказ волумена амигдалоидног комплекса код матернално депривираних животиња.

4.2. Утицај матерналне депривације на волумен *nucleus accumbens*-а

Волумен *nucleus accumbens*-а мерен је код матернално депривираних и контролних животиња, билатерално. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење укупног волумена *nucleus accumbens*-а код матернално депривираних животиња ($p < 0.05$) (графикон 2).



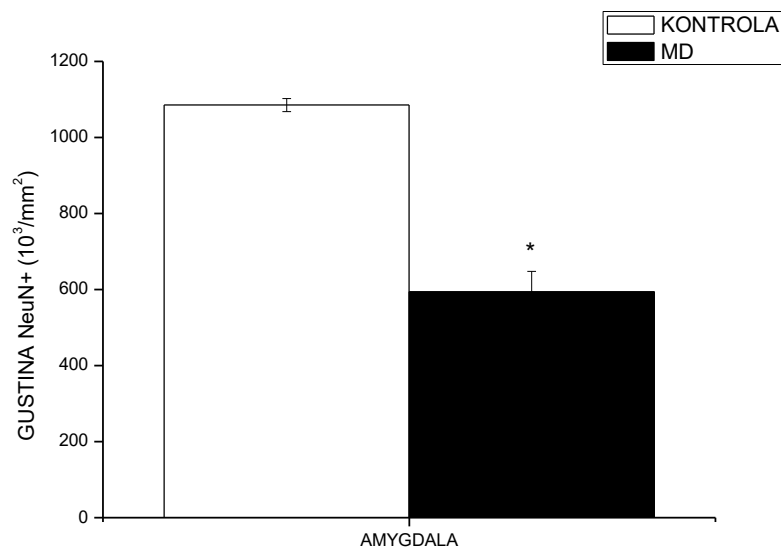
Графикон 2. Волумен *nucleus accumbens*-а код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



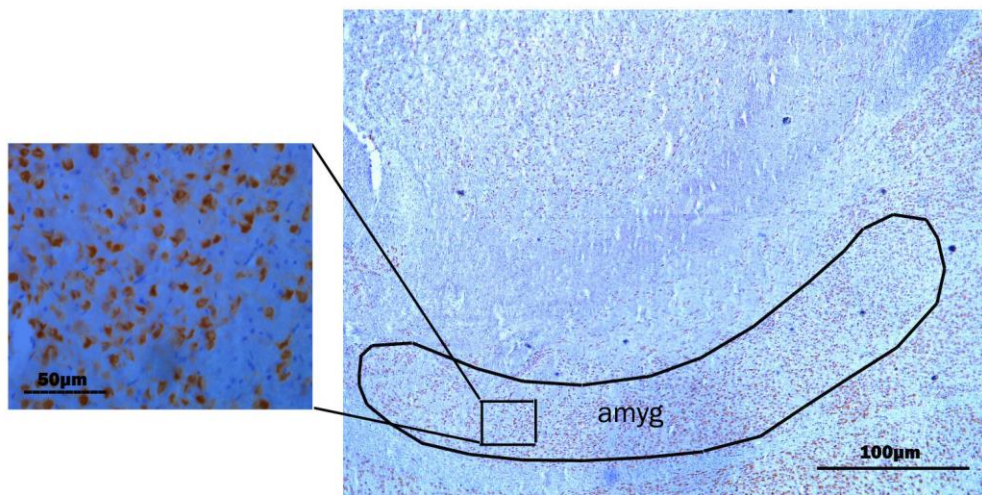
Слика 12. Репрезентативни приказ волумена *nucleus accumbens*-а код матернално депривираних животиња.

4.3. Утицај матерналне депривације на густину Neu-N имунореактивних неурона у амигдалоидном комплексу

С обзиром на добијено статистички значајно смањење укупног волумена амигдалоидног комплекса мерена је и густина NeuN имунопозитивних неурона на стереолошким пресецима мозга пацова на истој удаљености од брегме, где је вршено мерење и укупног волумена. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење густине NeuN имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 3).



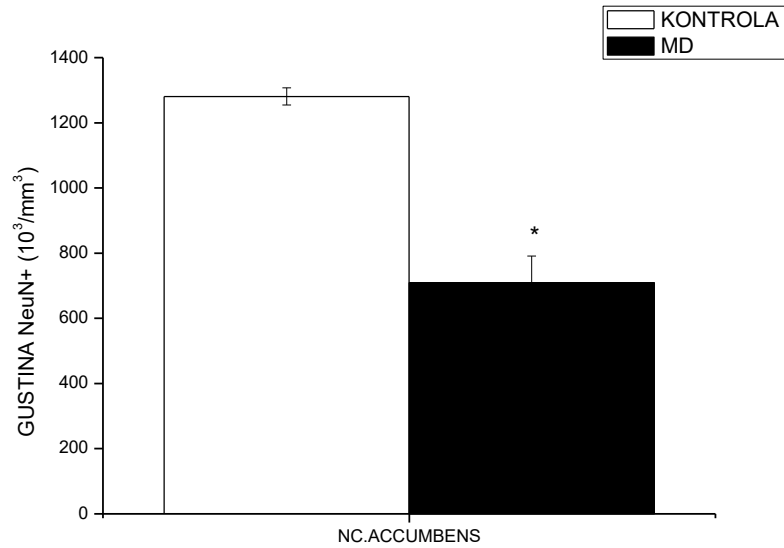
Графикон 3. Густина NeuN+ ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



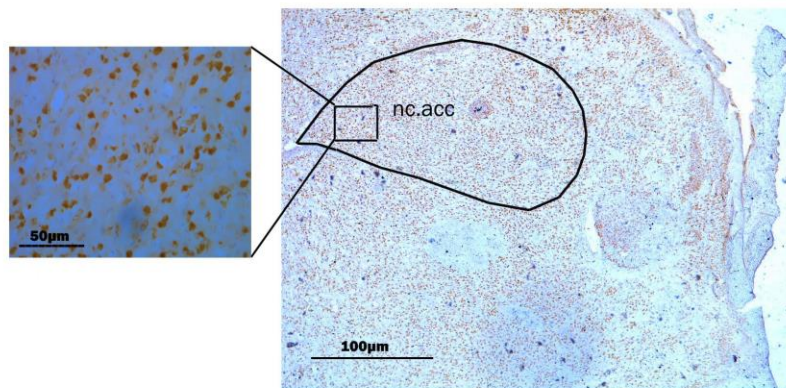
Слика 13. Репрезентативни приказ волумена амигдалоидног комплекса са густином NeuN имунопозитивних неурона код матернално депривираних животиња.

4.4. Утицај матерналне депривације на густину Neu-N имунореактивних неурона у *nucleus accumbens*-у

С обзиром на смањење укупног волумена *nucleus accumbens*-а мерена је и густина NeuN имунопозитивних неурона на стереолошким пресецима мозга пацова на истој удаљености од брегме, где је вршено мерење и укупног волумена. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење густине NeuN имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 4).



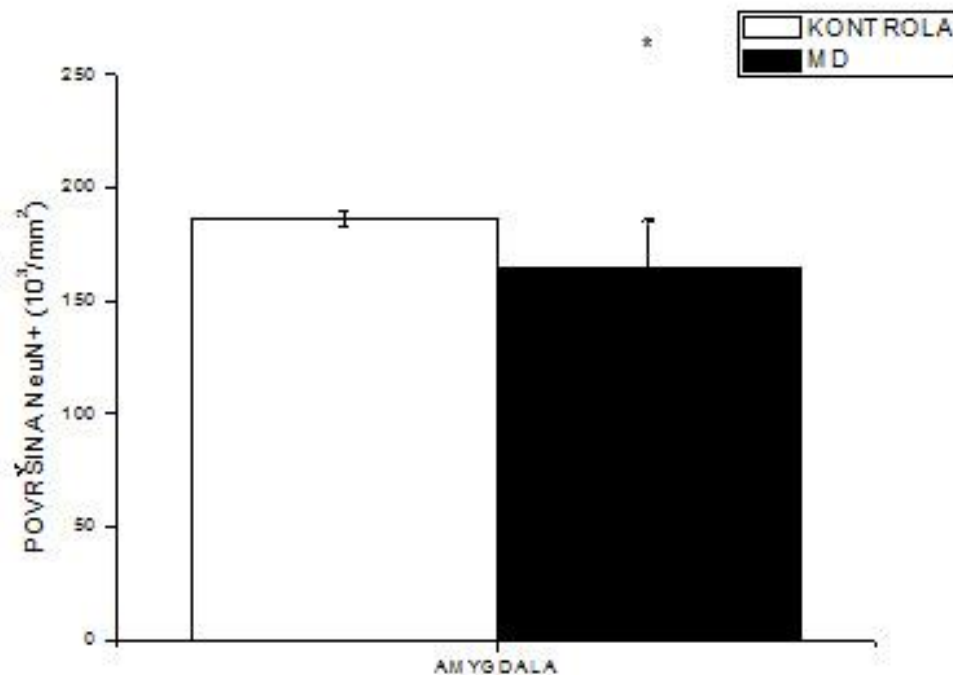
Графикон 4. Густина NeuN+ ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



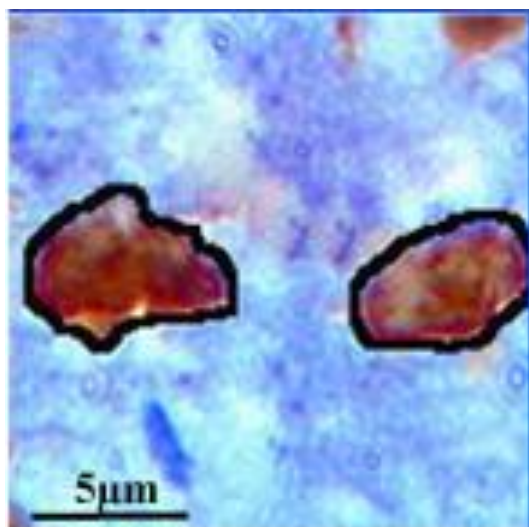
Слика 14. Репрезентативни приказ волумена *nucleus accumbens*-а са густином NeuN имунопозитивних неурона код матернално депривираних животиња.

4.5. Утицај матерналне депривације на површину Neu-N имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Како бисмо додатно потврдили смањење волумена амигдалоидног комплекса мерена је и површина NeuN имунопозитивних ћелија. Мерење је извршено билатерално, и код матернално депривираних и код контролних животиња. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење површине NeuN имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 5).



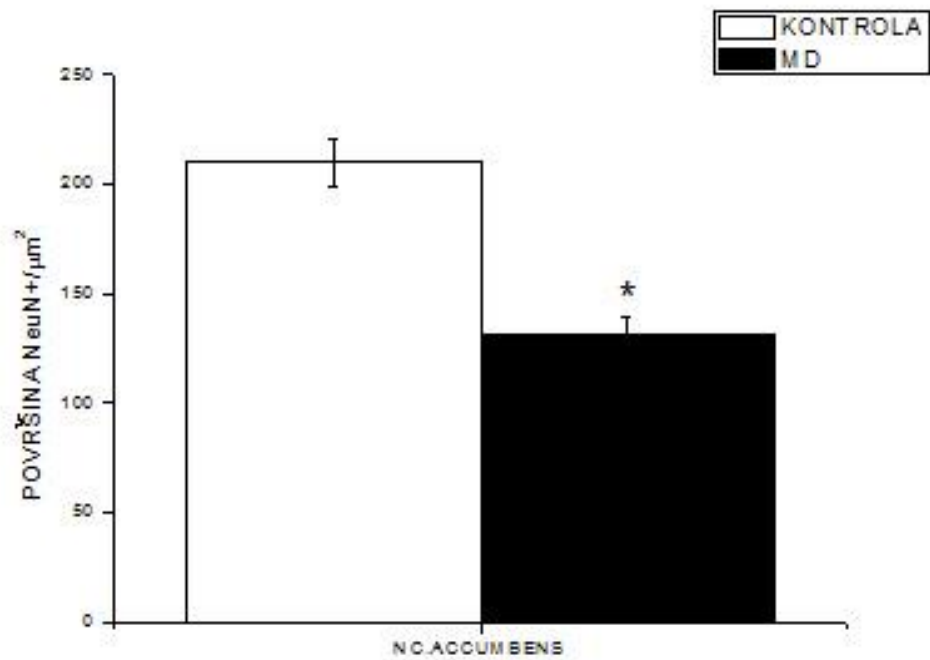
Графикон 5. Површина NeuN имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



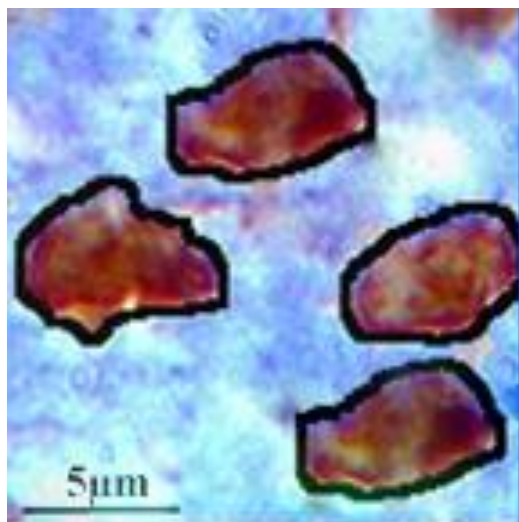
Слика 15. Репрезентативни приказ површине NeuN имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код матернално депривираних животиња.

4.6. Утицај матерналне депривације на површину Neu-N имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Како бисмо додатно потврдили смањење волумена *nucleus accumbens*-а, мерена је и површина NeuN имунопозитивних ћелија. Мерење је извршено билатерално, и код матернално депривираних и код контролних животиња. Коришћењем Т теста за два независна узорка извршена је статистичка анализа која је показала да постоји статистички значајно смањење површине NeuN имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 6).



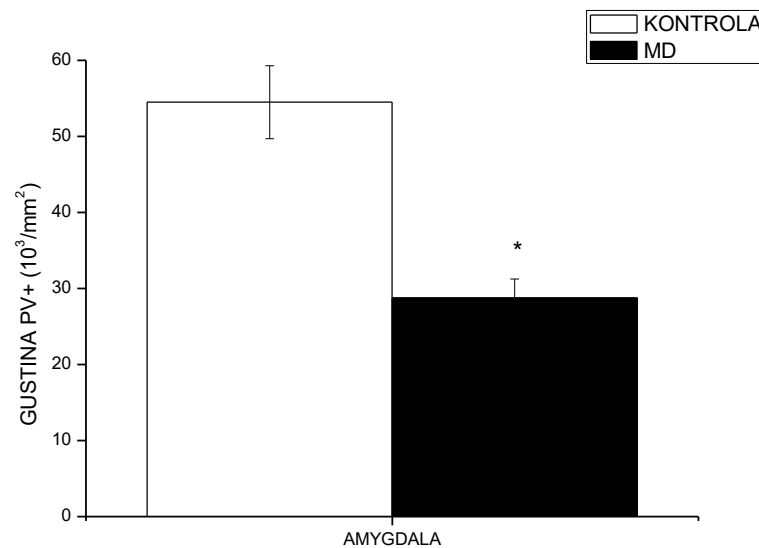
Графикон 6. Површина NeuN имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



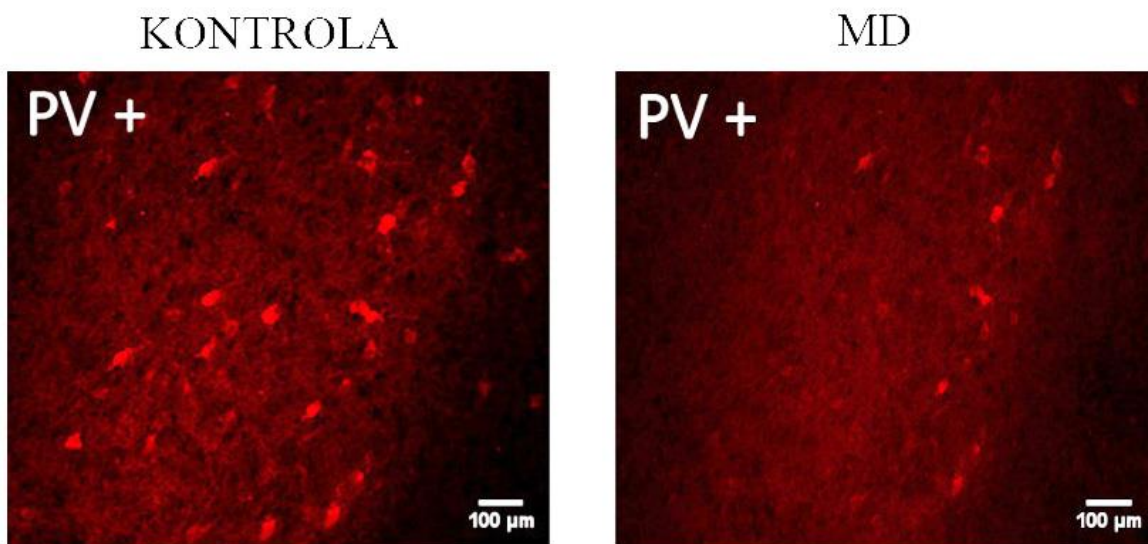
Слика 16. Репрезентативни приказ површине NeuN имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња.

4.7. Утицај матерналне депривације на густину парвалбумин (PV) имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Број парвалбумин + интернеурона је мерен у амигдалоидном комплексу на истој удаљености од брегме где је мерен и волумен амигдале. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број парвалбумин + интернеурона био статистички значајно снижен у амигдалоидном комплексу матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 7).



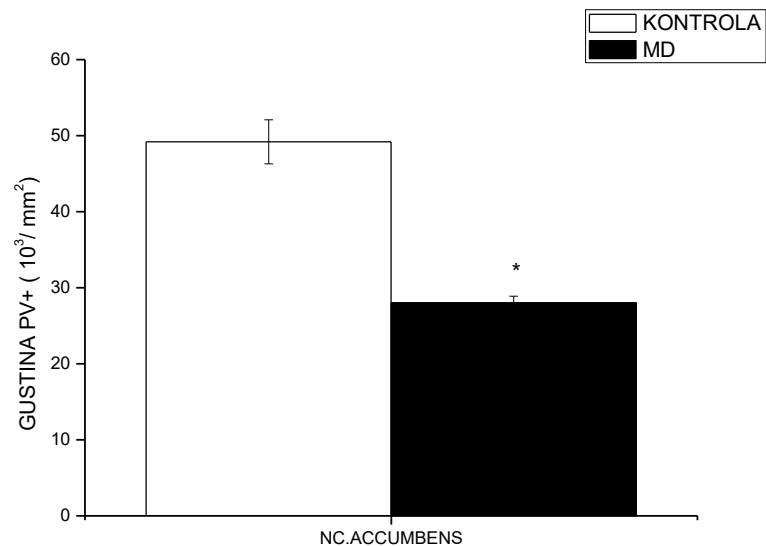
Графикон 7. Густина PV+ ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



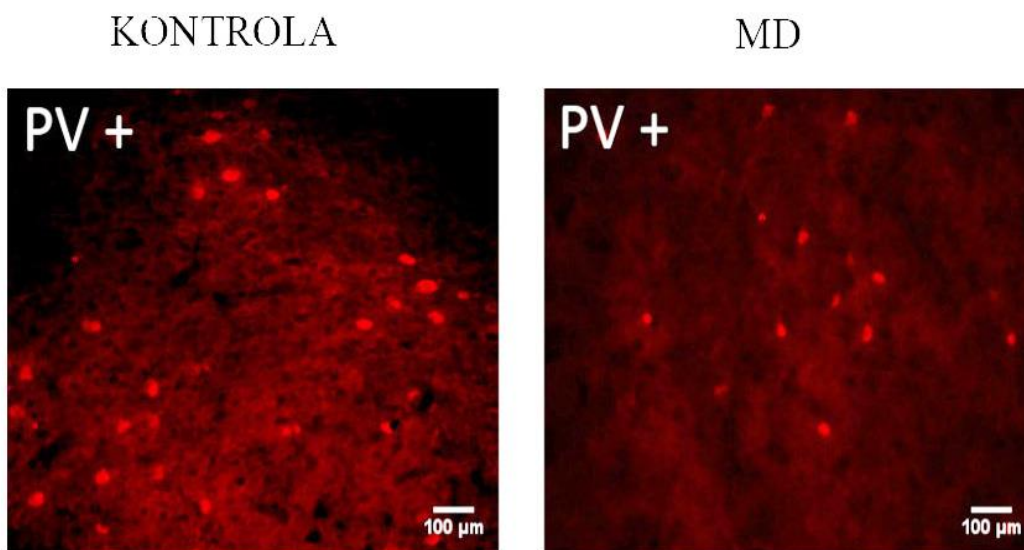
Слика 17. Репрезентативни приказ густине PV имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња

4.8. Утицај матерналне депривације на густину парвалбумин (PV) имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Број парвалбумин + интернеурона је мерен у *nucleus accumbens*-у на истој удаљености од брегме где је мерен и волумен *nucleus accumbens*-а. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број парвалбумин + интернеурона био статистички значајно снижен у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 8).



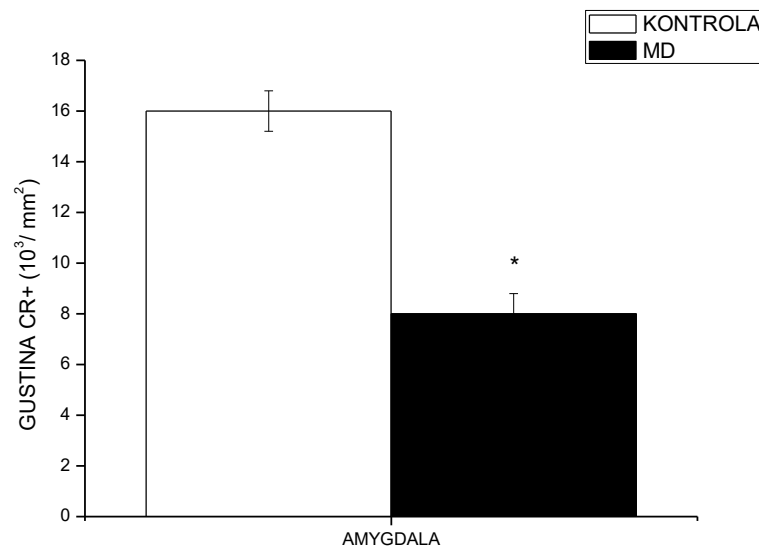
Графикон 8. Густина PV+ ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



Слика 18. Репрезентативни приказ густине PV имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња.

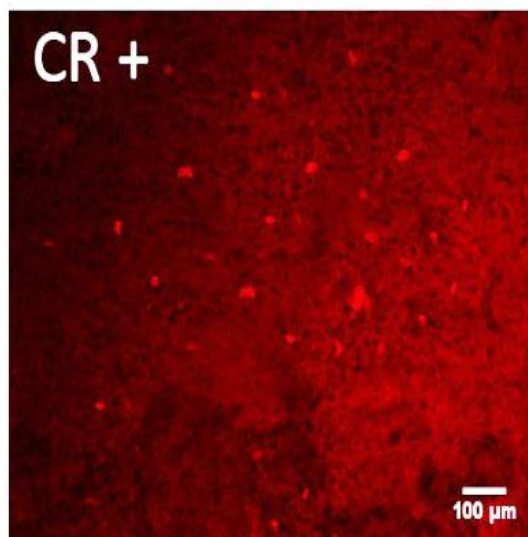
4.9. Утицај матерналне депривације на густину калретинин (CR) имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Број калретинин⁺ интернеурона је мерен у амигдалоидном комплексу на истој удаљености од брегме где је мерен и волумен амигдалоидног комплекса. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број калретинин⁺ интернеурона био статистички значајно снижен у амигдалоидном комплексу матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 9).

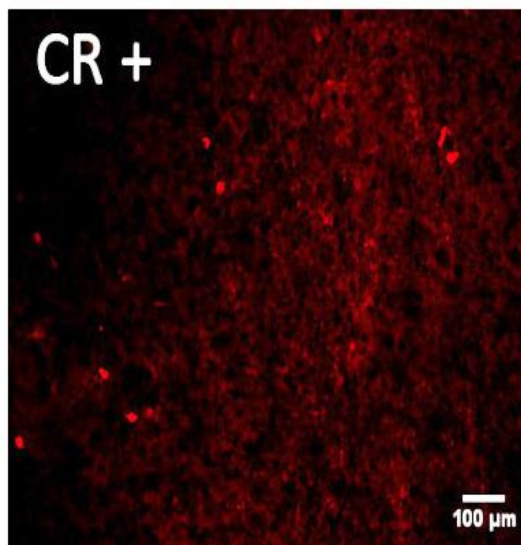


Графикон 9. Густина CR⁺ ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M

KONTROLA



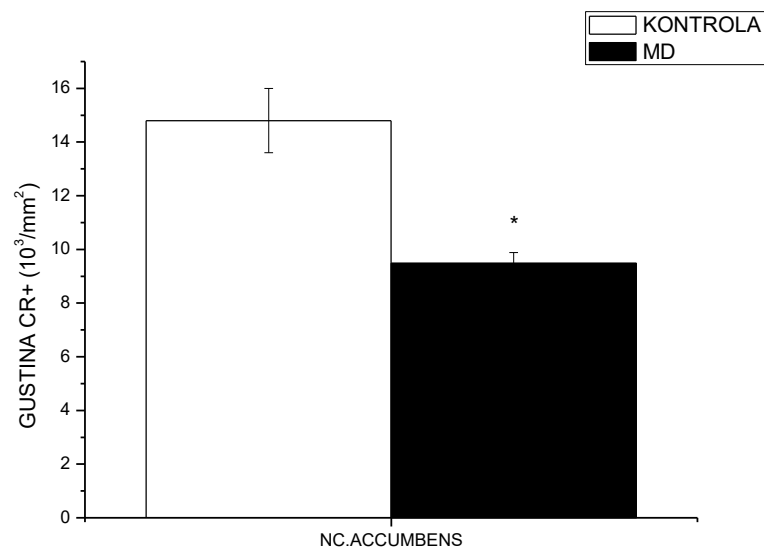
MD



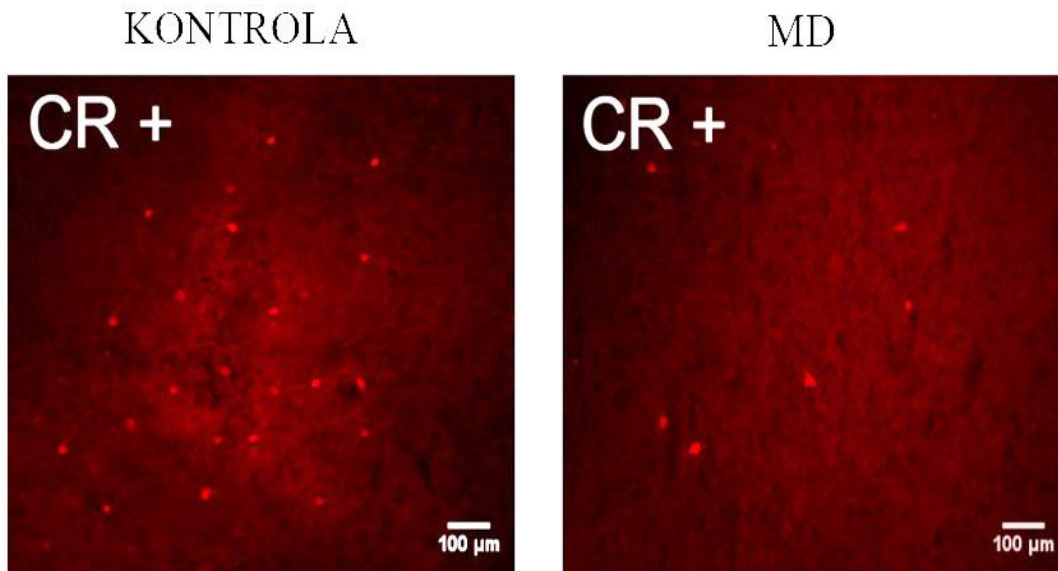
Слика 19. Репрезентативни приказ густине CR имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња.

4.10. Утицај матерналне депривације на густину калретинин (CR) имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Број калретинин+ интернеурона је мерен у *nucleus accumbens*-у на истој удаљености од брегаме где је мерен и волумен *nucleus accumbens*-а. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број калретинин+ интернеурона био статистички значајно снижен у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 10).



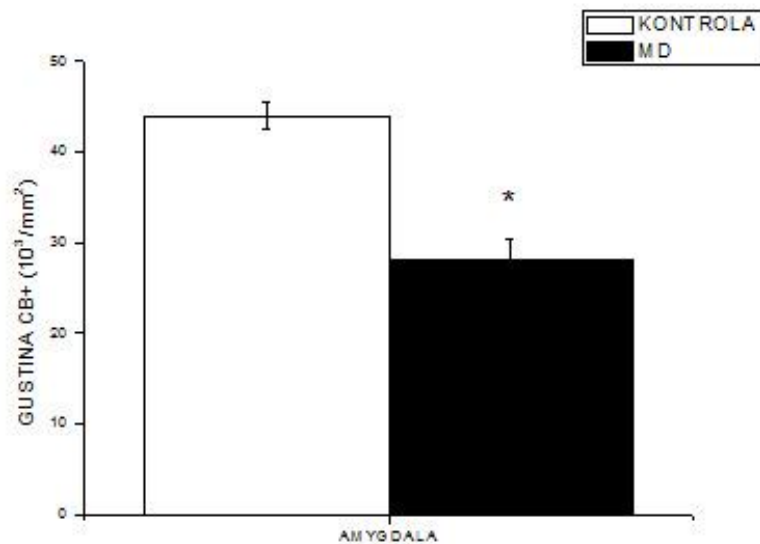
Графикон 10. Густина CR+ ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M



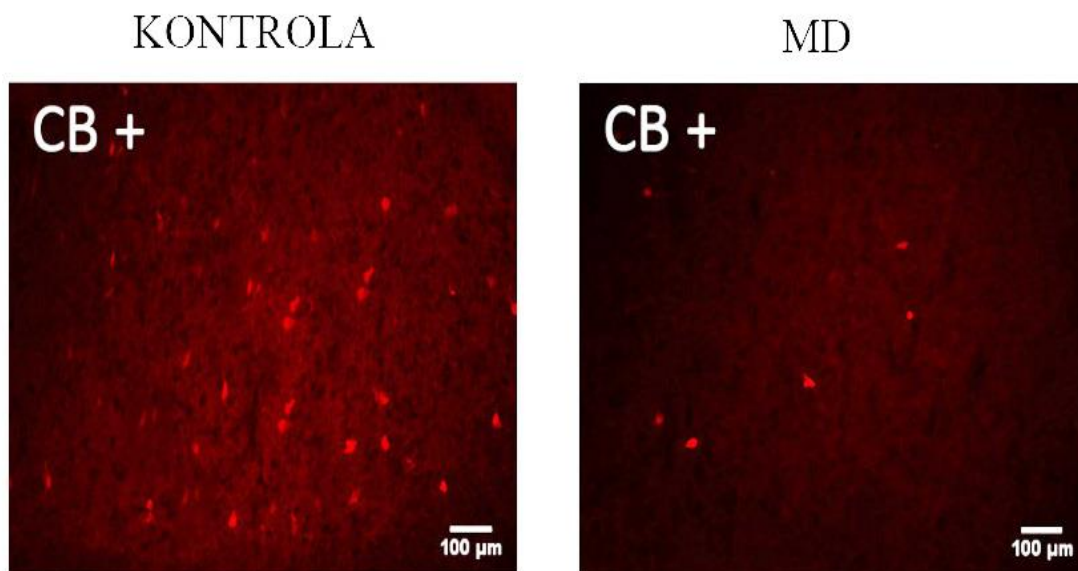
Слика 20. Репрезентативни приказ густине CR имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња.

4.11. Утицај матерналне депривације на густину калбиндин (CB) имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Број калбиндин+ интернеурона је мерен у амигдалоидном комплексу на истој удаљености од брегме где је мерен и волумен амигдалоидног комплекса. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број калбиндин+ интернеурона био статистички значајно снижен у амигдалоидном комплексу матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 11).



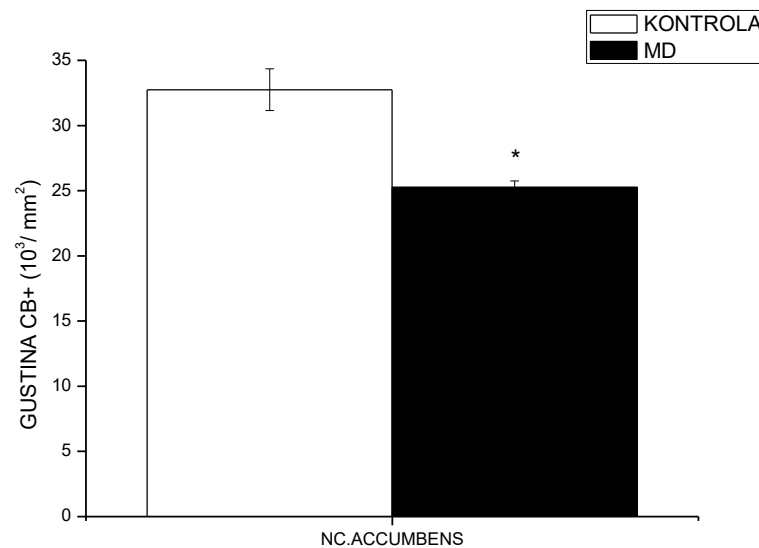
Графикон 11. Густина CB+ ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



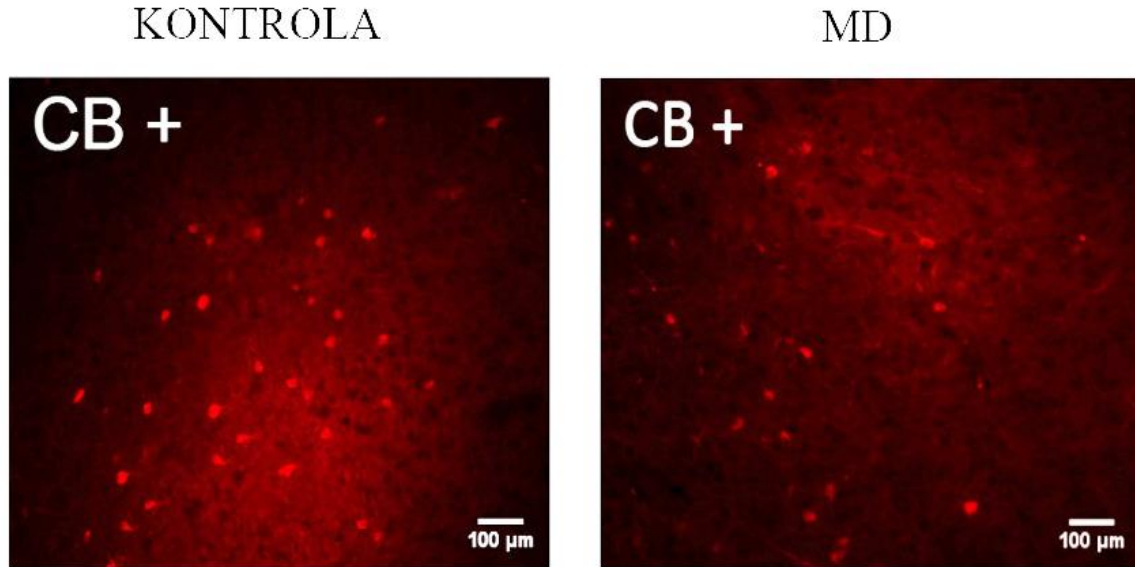
Слика 21. Репрезентативни приказ густине CB имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња.

4.12. Утицај матерналне депривације на густину калбиндин (СВ) имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Број калбиндин+ интернеурона је мерен у *nucleus accumbens*-у на истој удаљености од бреге где је мерен и волумен *nucleus accumbens*-а. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број калбиндин+ интернеурона био статистички значајно снижен у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 12).



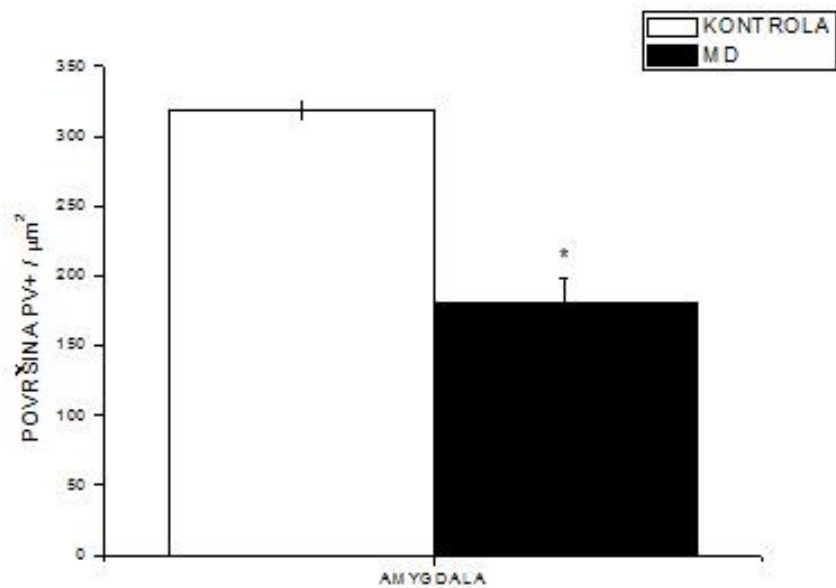
Графикон 12. Густина СВ+ ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



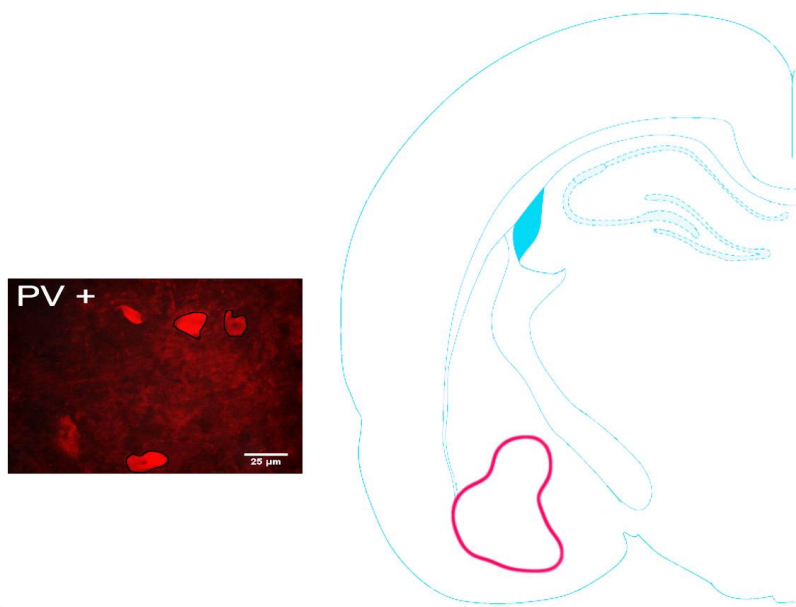
Слика 22. Репрезентативни приказ густине СВ имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња.

4.13. Утицај матерналне депривације на површину PV имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Површина PV имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине PV имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 13).



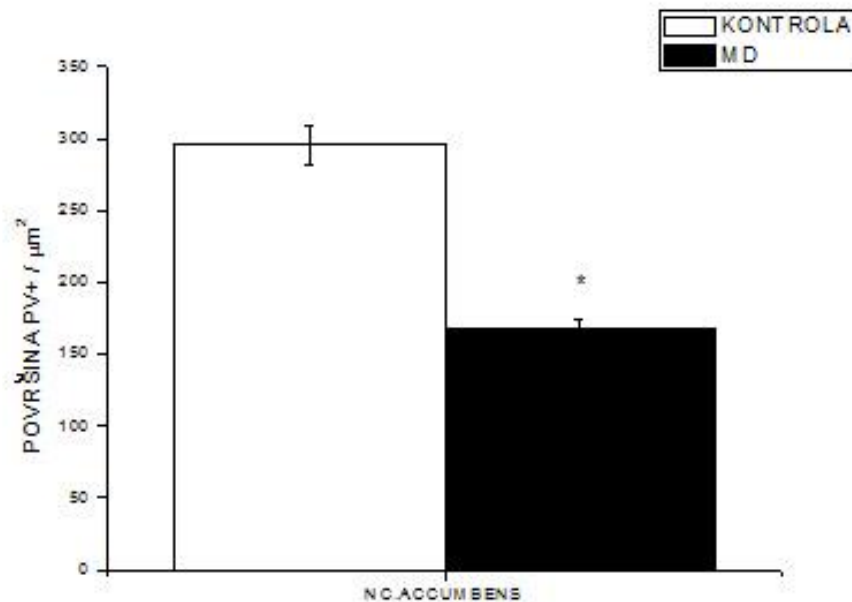
Графикон 13. Површина PV имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



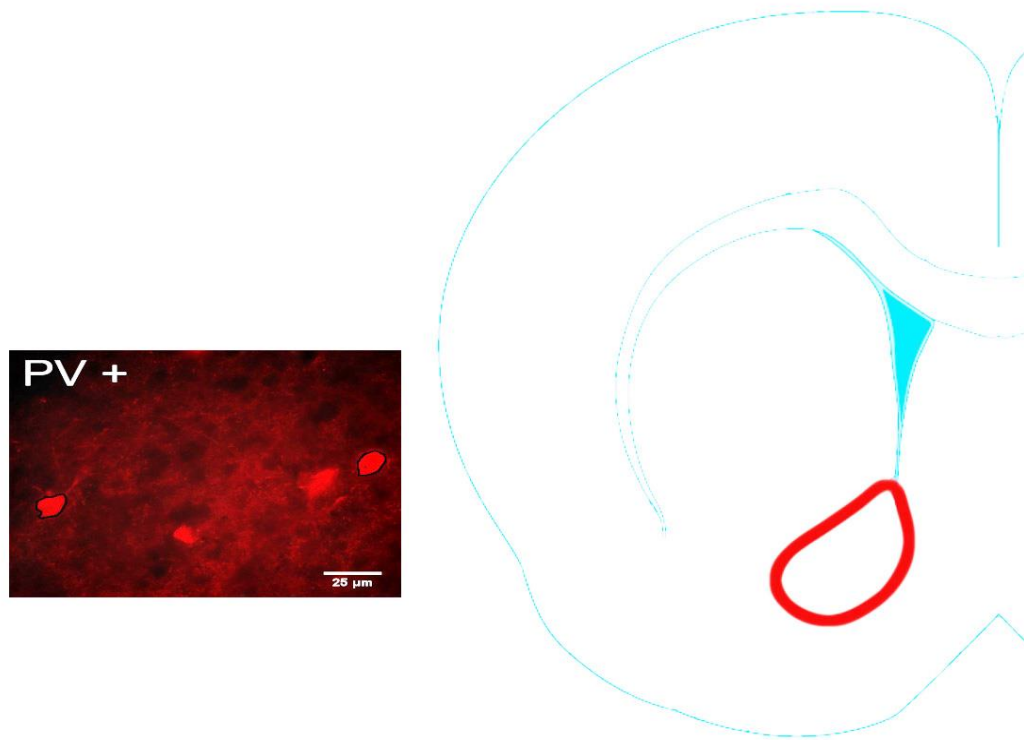
Слика 23. Репрезентативни приказ површине PV имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код матернално депривираних животиња.

4.14. Утицај матерналне депривације на површину PV имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Површина PV имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине PV имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 14).



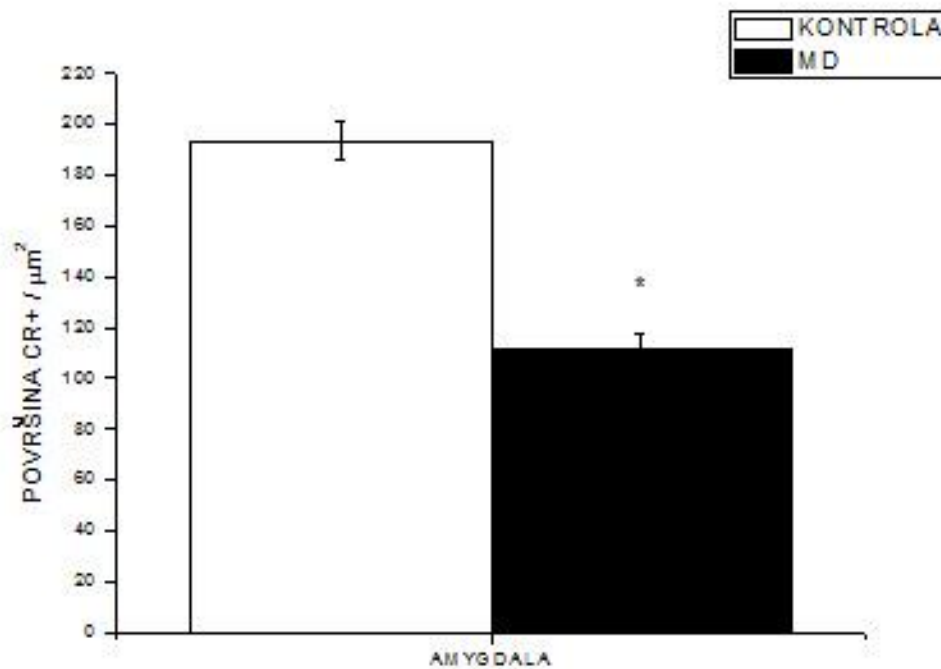
Графикон 14. Површина PV имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



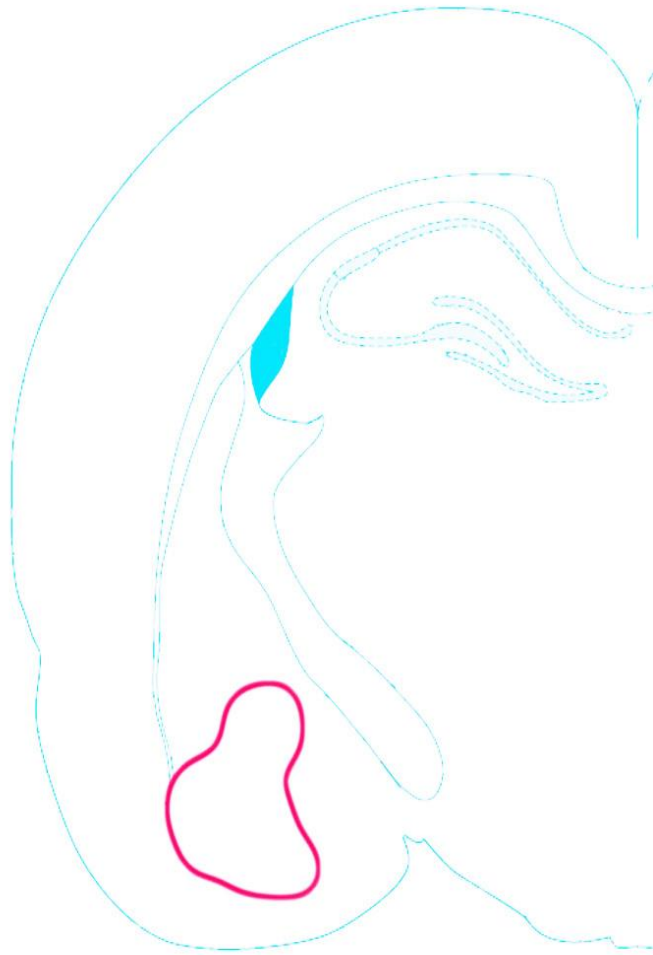
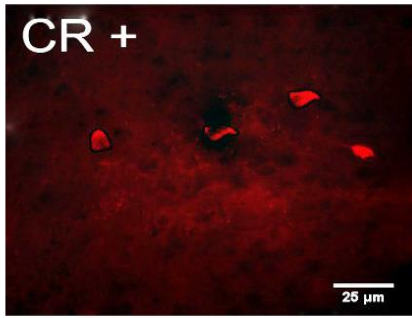
Слика 24. Репрезентативни приказ површине PV имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња.

4.15. Утицај матерналне депривације на површину CR имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Површина CR имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине CR имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 15).



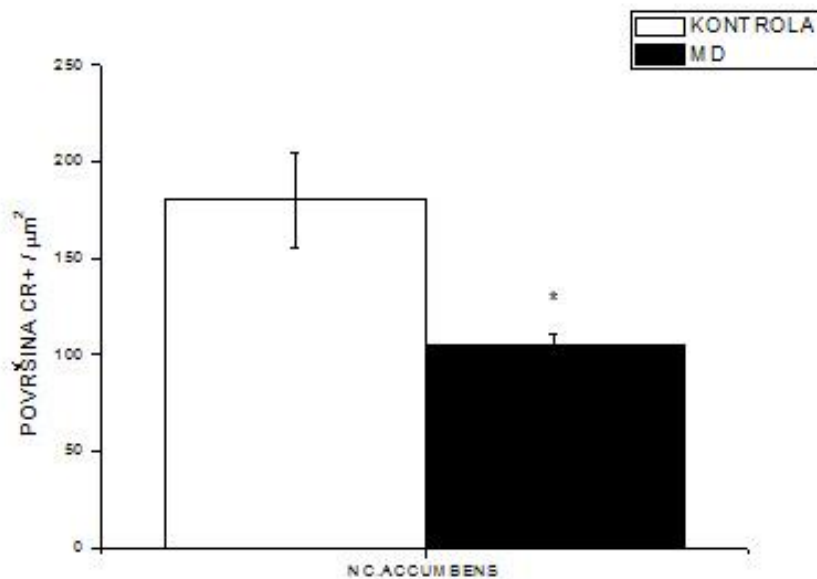
Графикон 15. Површина CR имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



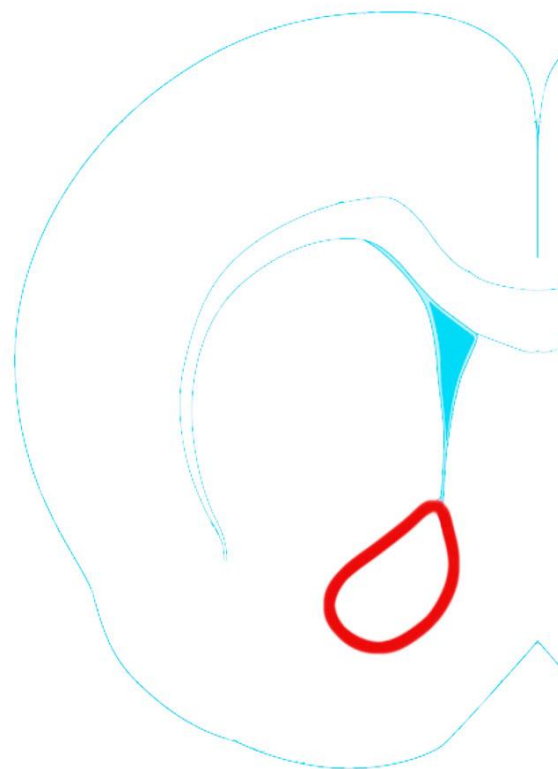
Слика 25. Репрезентативни приказ површине CR имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код матернално депривираних животиња.

4.16. Утицај матерналне депривације на површину CR имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Површина CR имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине CR имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 16).



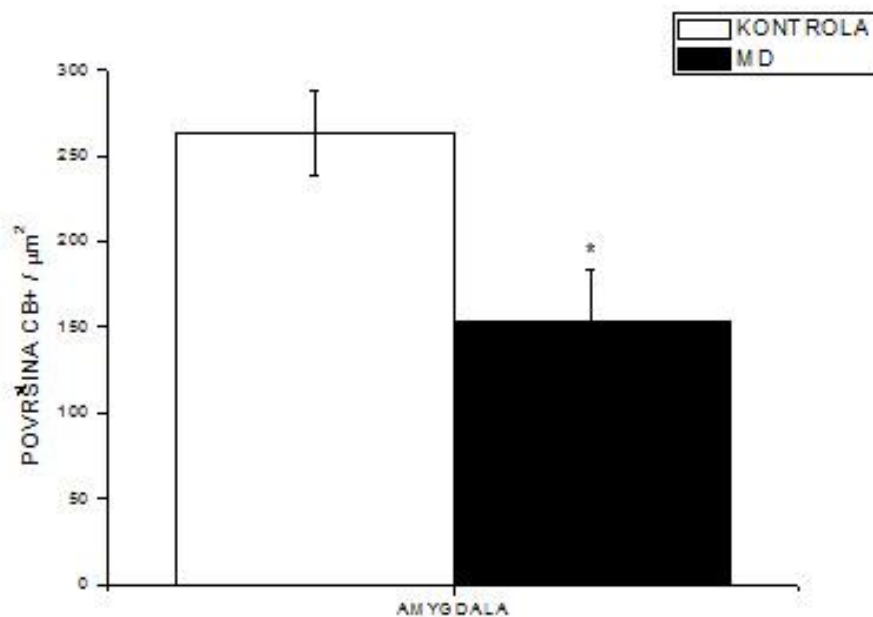
Графикон 16. Површина CR имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност ± S.E.M.



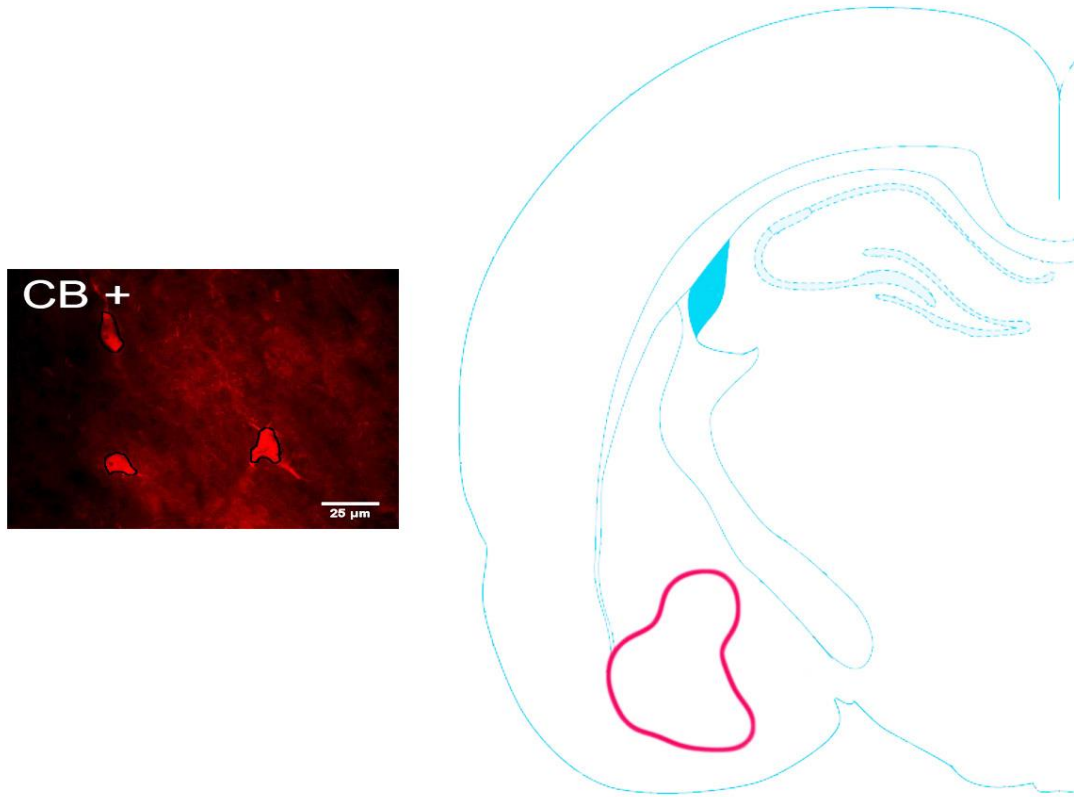
Слика 26. Репрезентативни приказ површине CR имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња.

4.17. Утицај матерналне депривације на површину СВ имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу

Површина СВ имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине СВ имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 17).



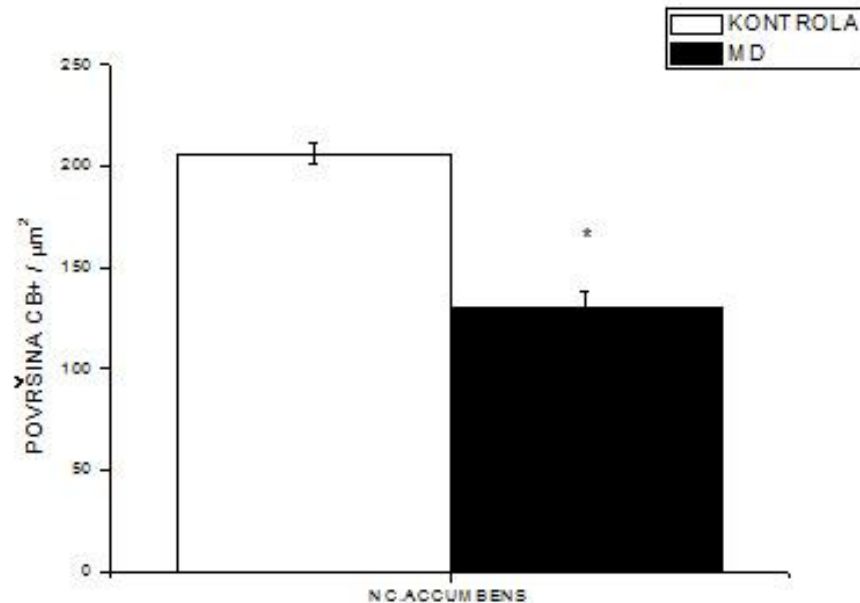
Графикон 17. Површина СВ имунопозитивних ћелија у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



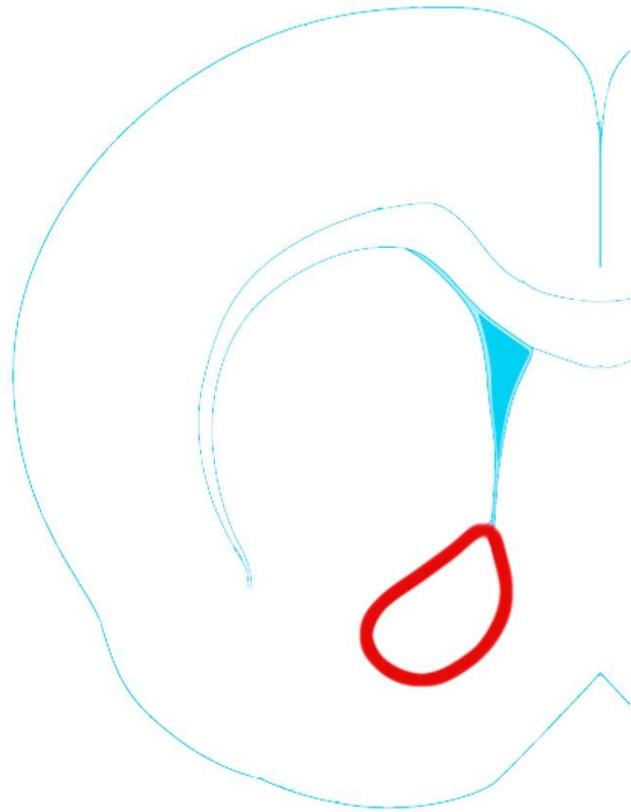
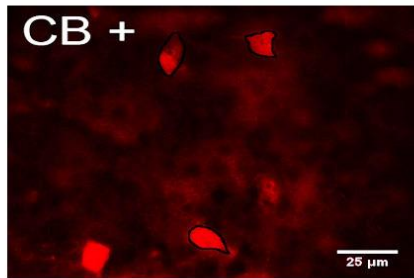
Слика 27. Репрезентативни приказ површине СВ имунопозитивних неурона у амигдалоидном комплексу код матернално депривираних животиња.

4.18. Утицај матерналне депривације на површину СВ имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Површина СВ имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је статистички значајно смањење површине СВ имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 18).



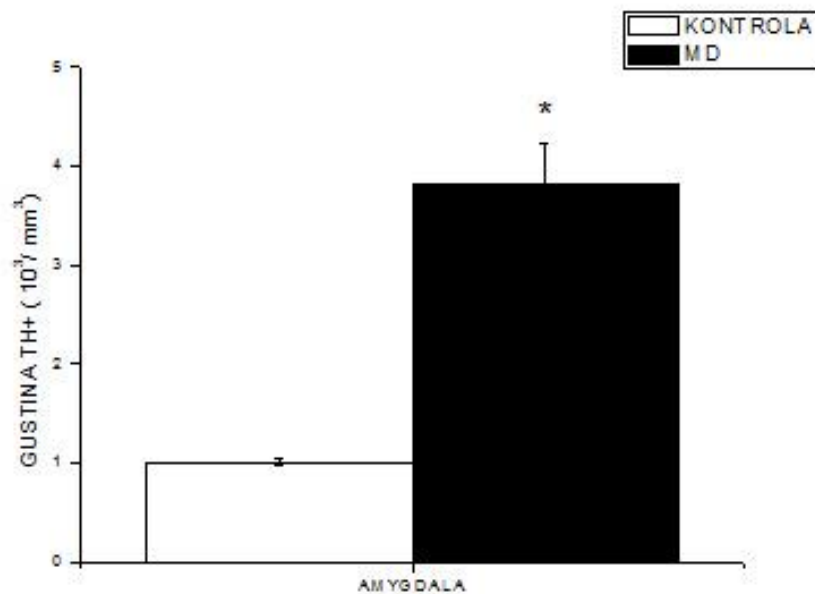
Графикон 18. Површина СВ имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



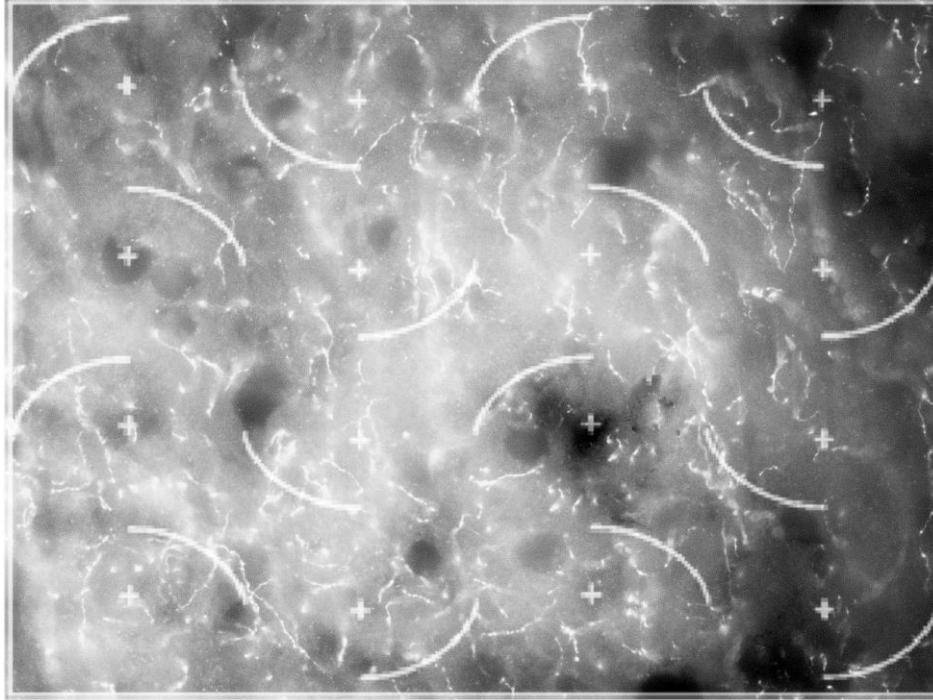
Слика 28. Репрезентативни приказ површине СВ имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња.

4.19. Утицај матерналне депривације на густину ТН имунореактивних влакана у амигдалоидном комплексу

Испитиван је и утицај матерналне депривације на густину ТН имунопозитивних влакана у амигдалоидном комплексу. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је густина ТН имунопозитивних влакана била статистички значајно повишена у амигдалоидном комплексу матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 19).



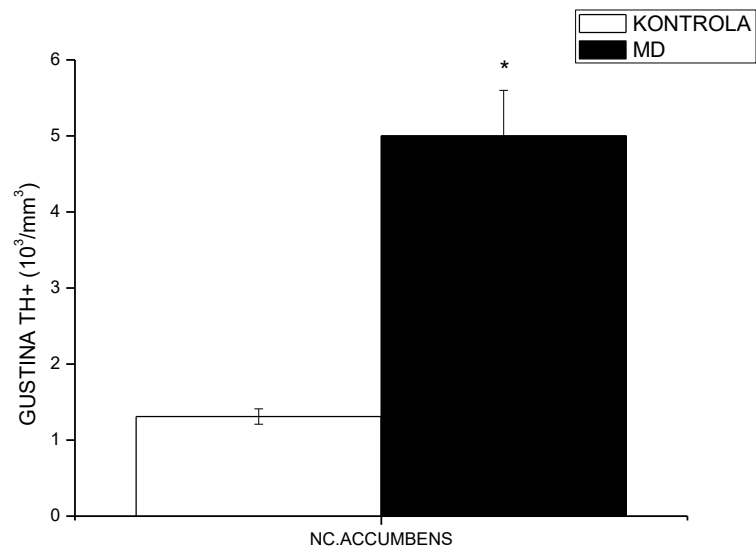
Графикон 19. Густина ТН влакана у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



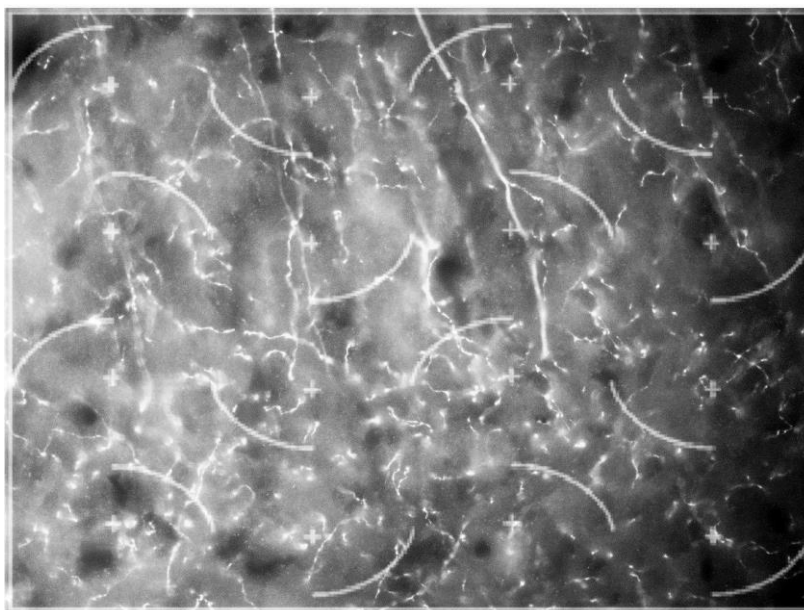
Слика 29. Репрезентативни приказ густине ТН позитивних влакна у амигдалоидном комплексу матернално депривираних животиња.

4.20. Утицај матерналне депривације на густину ТН имунореактивних влакана у *nucleus accumbens*-у

Испитиван је утицај матерналне депривације на густину ТН имунопозитивних влакана у *nucleus accumbens*-у. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је густина ТН имунопозитивних влакана била статистички значајно повишена у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 20).



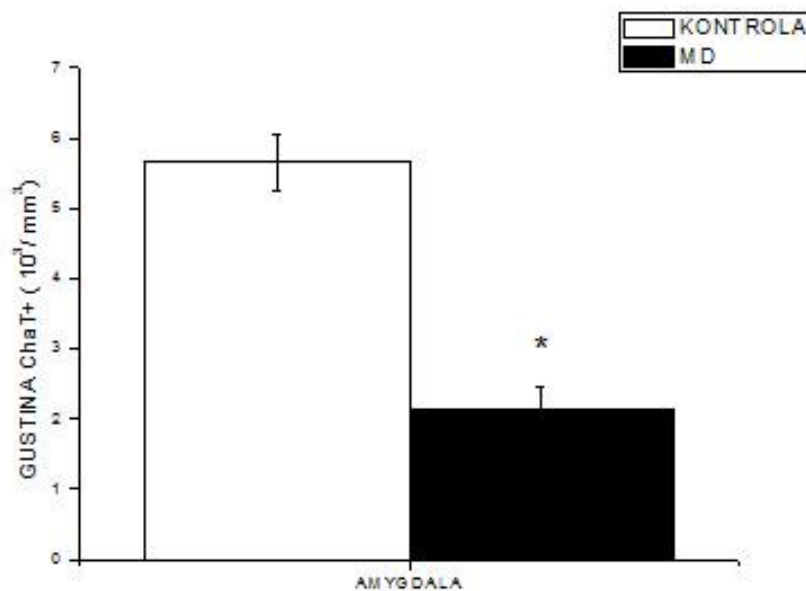
Графикон 20. Густина TH+ влакана у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



Слика 30. Репрезентативни приказ густине TH позитивних влакана у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња.

4.21. Утицај матерналне депривације на густину ChAT имунореактивних влакана у амигдалоидном комплексу

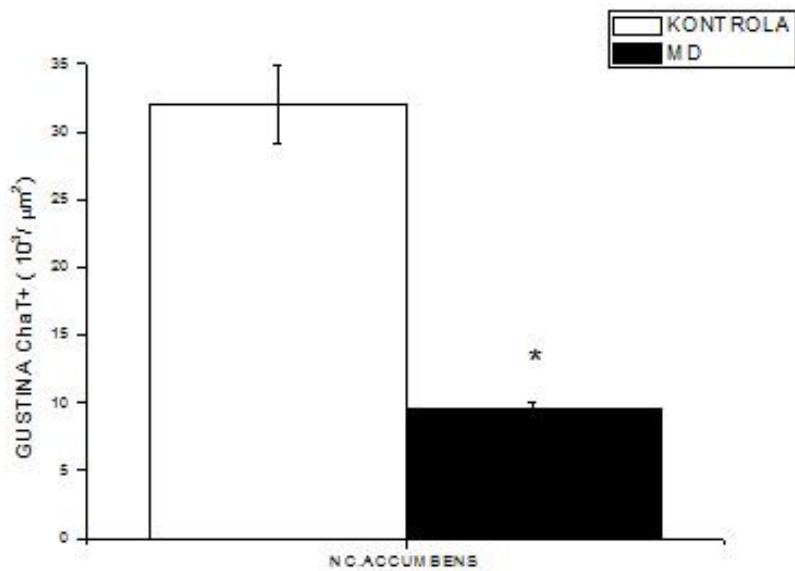
Испитиван је и утицај матерналне депривације на густину ChAT имунопозитивних влакана у амигдалоидном комплексу. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је густина ChAT имунопозитивних влакана била снижена у амигдалоидном комплексу матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 21).



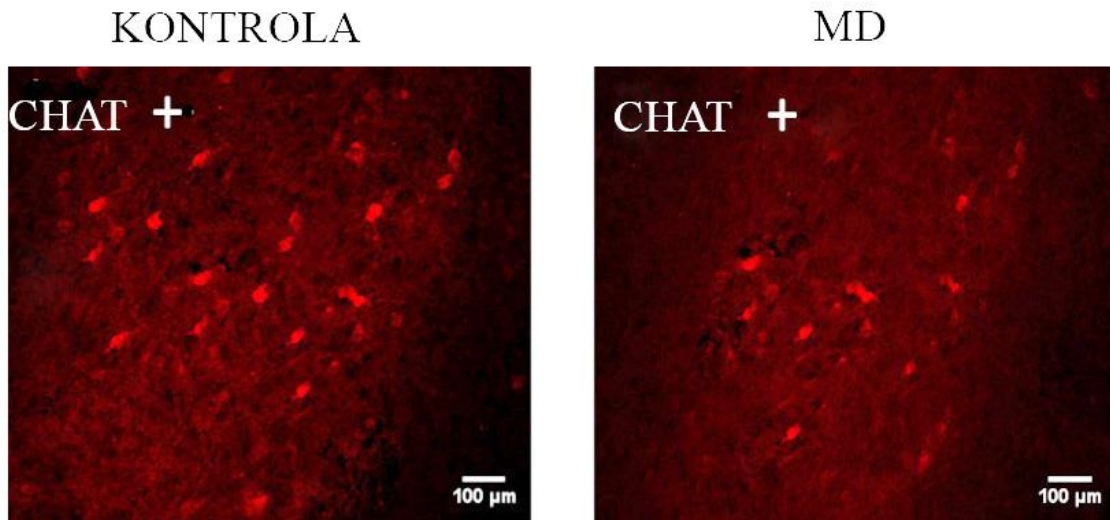
Графикон 21. Густина ChAT+ влакана у амигдалоидном комплексу код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.

4.22. Утицај матерналне депривације на густину ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Испитиван је и утицај матерналне депривације на број ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је да је број ChAT интернеурона био статистички значајно снижен у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних пацова ($p < 0.01$) (графикон 22).



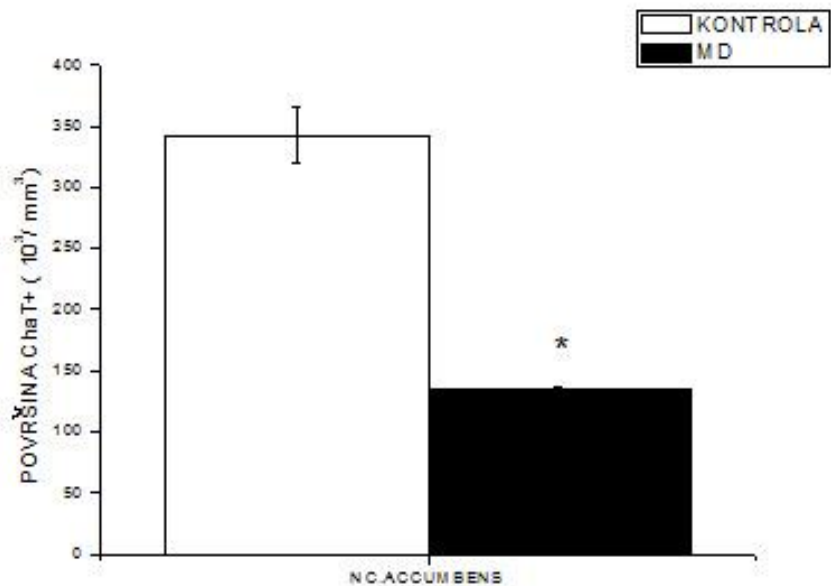
Графикон 22. Густина ChAT имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens* –у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



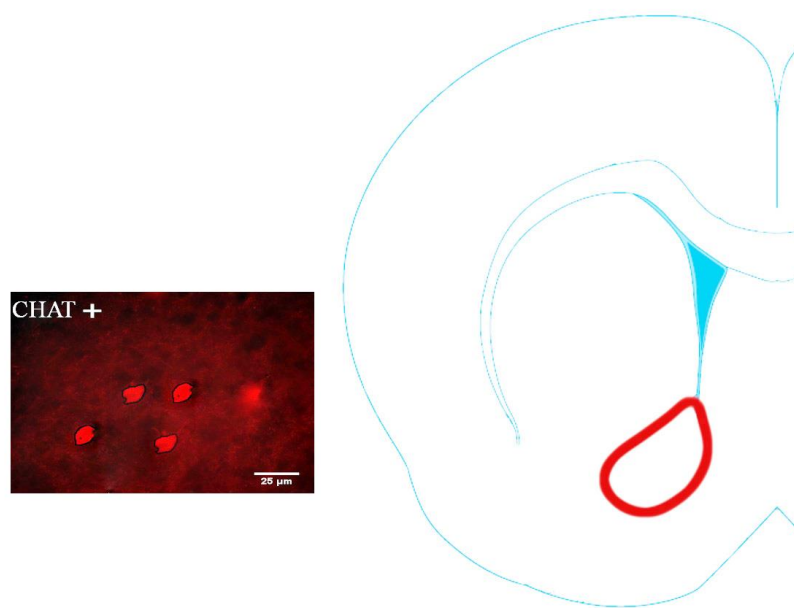
Слика 31. Репрезентативни приказ густине ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња.

4.23. Утицај матерналне депривације на површину ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у

Површина ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у мерена је билатерално код матернално депривираних и контролних животиња. Статистичком анализом коришћењем Т теста за два независна узорка показано је смањење површине ChAT имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у матернално депривираних животиња ($p < 0.01$) (графикон 23).



Графикон 23. Површина ChAT имунопозитивних ћелија у *nucleus accumbens*-у код контролних и матернално депривираних животиња. Резултати су приказани као средња вредност \pm S.E.M.



Слика 32. Репрезентативни приказ површине ChAT имунопозитивних неурона у *nucleus accumbens*-у код матернално депривираних животиња

5. ДИСКУСИЈА

Услови под којима се живот одиграва у раном периоду развоја кључни су у регулацији развоја мозга и основних образаца понашања (Newport i sar., 2002; Pryce i Feldon, 2003). Код сисара, однос између мајке и детета игра важну улогу у нормалном развоју потомстава, јер мајка обезбеђује осећај топлоте, сомато- сензорну, олфактивну, визуелну и аудитивну стимулацију, неопходну за постнатални развој (Pryce, 1996). Постнатални период је посебно осетљив временски оквир развоја мозга. Сматра се, да стрес у постнаталном периоду у поређењу са стресом у одраслом добу, 200 пута више повећава ниво кортикотропних хормона (Tottenham i Sheridan, 2009). Претклиничке и клиничке студије су показале да промене у животном окружењу и стрес који се дешава у раном постнаталном животу, у облику занемаривања, губитка родитеља или злостављања води неуробиолошким и психијатријским поремећајима у одраслом добу (Heim i Nemeroff, 2001; Kaufmann i sar, 2000; Hackman i sar, 2010; Carroll i sar, 2013; Teicher and Samson, 2016). Данас постоје бројни докази, захваљујући анималним студијама, о утицају епигенетских фактора на развој можданих структура.

Важно је нагласити, да временски оквир развоја мозга, код људи и глодара, није у потпуности у сагласности (Workman i sar, 2013). Показано је да стрес у првој постнаталној недељи код глодара одговара стресу у гестационом периоду код људи (Krugers i sar, 2017). Код људи развој мозга почиње током гестације кад велики број прогениторских ћелија подлеже диференцијацији (Andersen, 2003; Stiles i Jernigan, 2010).

Наша испитивања показала су да је волумен амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а статистички значајно смањен у експерименталној групи животиња која је била подвргнута матерналној депривацији 9. ПНД у трајању од 24 часа.

Амигдалоидни комплекс је, као део лимбичког система, укључен у активирање хипоталамо - хипофизно - адреналне осовине приликом излагања различитим изазовима и претњама (Dedović i sar, 2009). Развој амигдалоидног комплекса започиње *in utero*, 17. дана ембрионалног развића (Berdel i sar, 1997b) и наставља се све до 14. ПНД. Претпоставља се да је најинтензивнија матурација 7. ПНД (Berdel i sar, 1997b), што указује на чињеницу да ће матернална депривација 9. ПНД, тј. манипулисање спољашњим факторима, значајно утицати на развој ове лимбичке структуре. У хуманој популацији, утврђено је да је базична неуроанатомска грађа амигдалоидног комплекса присутна већ на

рођењу, а код девојчица ће се структурни раст амигдалоидног комплекса комплетно завршити до 4. године живота (Tottenham, 2013). Амигдалоидни комплекс садржи велики број неурона који производе кортикотропин - ослобађајући хормон, али и на себи носе ендогени рецептор за исти хормон. Стрес у раном периоду живота повећава ниво кортикотропин - ослобађајућег хормона и утиче на усходну регулацију кортикотропин - ослобађајућих рецептора у амигдалоидном комплексу што покреће реакцију карактеристичну за страх (Makino i sar, 1994; Natalski i sar, 1998). Манипулисање условима збрињавања одојчади код глодара, у оквиру бихејвиоралних неуроразвојних студија, показало је да занемаривање и злостављање у раном периоду живота доводи до убрзаног развоја амигдалоидног комплекса. Под убрзаним развојем подразумева се убрзани раст дендрита, рана мијелинизација, повећан садржај кортикотропин - ослобађајућих рецептора, функционална сензитизација (Salzberg i sar, 2007; Kikusui i Mori, 2009; Becker i sar, 2007; Sullivan i Holman, 2010; Davidson i McEwen, 2012; Ono i sar, 2008), али и мањи број бензодиазепинских рецептора, што за последицу има развој анксиозног понашања и социо-емотивни дефицит (Sabatini i sar, 2007; Baram i Natalski, 1998). Многе студије показују да одрасли који су били изложени раној трауми имају мањи али хиперактивнији амигдалоидни комплекс (Driessen i sar, 2000; Schmahl i sar, 2003). Студије начињене неуроимицинг техникама код људи показале су да је амигдалоидни комплекс смањених димензија (Driessen i sar, 2000) али и повећене реактивности на емотивни стрес (Armony i sar, 2005; Liberzon, i sar, 1999; Rauch, i sar, 2000; Shin i sar, 2004). Функционална магнетна резонанца начињена код ових пацијената показује да је амигдалоидни комплекс хиперактиван чак и у време одмора или кад није изложен специфичним стимулусима из спољашње средине. Амигдалоидна хиперактивност вероватно је последица смањене инхибиције из вентралног префронталног кортекса путем GABA-ергичких инхибиторних неурона. Студије показују, да се вентрална префронтална кора развија дуго након рођења код глодара, што је чини вулнерабилном на стрес (Aksić, 2013). Стрес у раном детињству мења одговор амигдалоидног комплекса у страху и бесу, а води осећају анксиозности и немогућности да се негативне емоције савладају (Fonzo i sar, 2016; Kim i sar, 2013). Измењена активност амигдалоидног комплекса уочена је и код одраслих који су као деца били жртве породичног насиља или били занемаривани (Maheu i sar, 2010; Tottenham i sar, 2011; McCrory i sar, 2011). Hanson (2015) је са својим сарадницима потврдио да мањи

волумен амигдалоидног комплекса имају деца која су одрастала у стресним условима. Veer (2015) је доказао да је мањи амигдалоидни комплекс присутан код пацијената лечених од посттрауматског стресног синдрома, а због трауме којој су били изложени као деца. Такође, смањен амигдалоидни комплекс уочен је код деце која имају коморбидитет са биполарним поремећајем (Driessen i sar, 2000; Schmahl i sar, 2003). Интересантно је, да студија начињена над одраслима (старим између 44 - 48. година) који су као деца одрастали у породицама са финансијским тешкоћама, такође показује смањен волумен амигдалоидног комплекса и хипокампуса (Butterworth, 2011). Настала продужена хиперактивност води ћелијској атрофији и/или смрти, а последично и смањењу волумена самог амигдалоидног комплекса и целог мозга (Pantel i sar, 1998). У ранијим истраживањима било је тешко извршити делинеацију амигдалоидног комплекса од хипокампуса те се смањење волумена није могло приписати искључиво амигдалоидном комплексу, али усавршавањем техника неуровизуализације показано је да је код психијатријских пацијената волумен амигдалоидног комплекса смањен (Anticevic i sar, 2014). Антићевић и сарадници (2014) указују на то да је код схизофрених пацијената волумен амигдалоидног комплекса смањен и у корелацији са степеном стреса. Функционална магнетна резонанца, потврдила је да је смањење волумена повезано са дисконекцијом између амигдалоидног комплекса и префронталног кортекса (Liu i sar, 2014). Фацијално емотивно препознавање поремећено је код схизофрених пацијената и јесте последица смањења волумена амигдалоидног комплекса (Namiki i sar, 2007). Мета анализа коју је објавио Okada (2016), укључујући 1680 здравих појединаца и 884 схизофрених пацијента, указује на смањење волумена амигдалоидног комплекса али и језгра *nucleus accumbens-a*.

Мезолимбички систем, чији је важан део и *nucleus accumbens*, код глодара сазрева тек у трећој недељи постнаталног живота (Voorn i sar, 1988). Незрелост *nucleus accumbens-a* разлог је његове повећане осетљивости на стрес у раном периоду развоја нервног система (Huppertz-Kessler i sar, 2012), као што је и сепарација од мајке 9. ПНД. Истраживања спроведена над пацијентима оболелим од схизофреније, схизоафективног поремећаја и схизофренији сличних поремећаја указују да се волумен *nucleus accumbens-a* прогресивно смањује са напредовањем болести, док медикаментозна терапија антипсихотицима води

повратку волумена на нормалну величину (Boonstra i sar, 2011). Већина истраживача у току својих студија управо се суочава са овим проблемом, да ли су студије спроведене над пацијентима леченим антипсихотицима или не. Показано је да атипични антипсихотици повећавају запремину лимбичких структура и базалних ганглија (Gur i sar, 1998). Зато *post mortem* студије и неуроимидинг студије дају контраверзне резултате у вези са променама волумена лимбичких структура. С друге стране, верује се да и анатомски положај ових једара, делује протективно на промене волумена за разлику од кортекса који је примарно измењен у шизофренији (Swayze i sar, 1992). Уколико се у студије укључе само пацијенти који нису лечени медикаментозном терапијом тј. атипичним антипсихотицима, неуроимидинг студије показују смањење волумена *nucleus accumbens*-а (Corson i sar, 1999; Keshavan i sar, 1998). Морфометријске студије рађене *in vivo* или *post mortem* указују и да постоји разлика у величини *nucleus accumbens*-а и амигдалоидног комплекса у левој и десној хемисфери тј. да је смањење запремине ових лимбичких структура статистички значајније са леве стране (Andreasen i sar, 1982; Luchins i sar, 1982; Johnstone i sar, 1989; Bogerts i sar, 1990). Лева хемисфера великог мозга развија се дуже од десне, тако да је дуже подложна утицајима стресора из спољашње средине и склонија абнормалном развоју и миграцији неурона (Galaburda 1991; Bracha, 1991). Pakkenberg (1990) у *post mortem* начињеној студији у којој је било укључено 14 шизофрених пацијената и 13 контрола, показао је статистички значајно смањење волумена *nucleus accumbens*-а. Уколико шизофренију посматрамо као неуроразвојну болест, чији је анимални модел матернална депривација, рани стрес који се одиграо у периоду матурације можданих структура учиниће неуроне осетљивијим на екситотоксичност или апоптозу, што битно мења тј. смањује волумен можданих структура (Olney i Farber, 1995).

Како бисмо утврдили на рачун којих ћелија долази до смањења волумена лимбичких структура, амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а, у овом истраживању, одређивана је густина Neu-N имунореактивних ћелија и мерена је површина тела Neu-N имунореактивних ћелија. Резултати су показали смањење како у броју тако и у површини тела неурона и у амигдалоидном комплексу и у *nucleus accumbens*-у.

Студије које се баве проучавањем утицајем кортикостероида на нервне ћелије дају контраверзне резултате. Данас се претпоставља да у стресу ослобођени кортикостероиди

не делују као изолован фактор на нервну ћелију него покрећу низ интрацелуларних механизма који доводе до ћелијске смрти (Lee i sar, 2002).

Амигдалоидни комплекс садржи високу концентрацију рецептора за глукокортикоиде, али и сам представља екстрахипоталамички извор неурона који производе кортикотропин - ослобађајућих хормона (Vyas i sar, 2002). Базолатерално једро амигдалоидног комплекса има важну улогу у регулацији анксиозности и развоју афективне реакције (Vyas i sar, 2002; Venpur i sar, 2007). Ослобађањем глукокортикоида, који поседују способност проласка кроз крвно - моздану баријеру, и везивањем за одговарајуће рецепторе долази до стресом индукованих промена у синаптичкој пластичности и дугорочних промена у понашању (Shekhar i sar, 2009). Средњи трновити неурони у *nucleus accumbens*-у највулнерабилнији су у стању стреса и изразито осетљиви на деловање глукокортикоида.

Примарни глукокортикоид код људи и већине животиња је кортизол, али код глодара то је кортикостерон (Herman i Cullinan, 1997). Глукокортикоиди делују преко две врсте рецептора: минералкортикоидних и глукокортикоидних (McEwen i sar, 1986). Минералкортикоидни рецептори су концентрисани у лимбичким структурама, *nucleus accumbens*-у, хипокампусу и амигдалоидном комплексу и имају 10 пута већи афинитет за глукокортикоиде (Funder, 1992). Такође, ови рецептори су окупирани ниским, базалним нивоима глукокортикоида, док ће се у стању повећаног ослобађања глукокортикоида, као што је стрес узрокован сепарацијом од мајке, хормон везати и за глукокортикоидне рецепторе (Reul i De Kloet, 1985). У мозгу глодара који је још увек у развоју, првих постнаталних недеља, повећан је број минералкортикоидних рецептора. Преко минералкортикоидних рецептора одиграва се неуронска пролиферација, синаптогенеза, дендритско гранање и повећавање запремине читавог мозга (Sands i sar, 1979). Глукокортикоидни рецептори активирају се само када ниво кортикостероида пређе базални ниво, као што је стање изразитог стреса приликом одвајања од мајке у 9. постнаталном дану. Потврђено је да поремећај баланса у активацији ове две групе рецептора доводи до поремећаја у развоју мозга, понашању и ендокрином одговору (Gould, 1994). Постнатално, високе концентрације глукокортикоида, у хипореспондибилном периоду (2 - 14. постнаталног дана) заустављају неурогенезу, ремете неуронску миграцију и доводе до ћелијске смрти, јер је тада ниво циркулишућих

кортикостероида јако низак (McEwen i sar, 1986; 1992). Глукокортикоиди који се ослобађају у стању стреса, оштећују неурон тако што доводе до митохондријалне дисфункције и апоптозе, као и застоја у ћелијском циклусу и доводе до ћелијске смрти. Стрес индукује и ћелијску атрофију и синаптичку дисфункцију стимулисањем хиперфосфорилације на Тау протеинима цитоскелета. Такође, повећавањем концентрације интрацелуларног Ca^{2+} покреће се механизам ћелијске смрти.

Post mortem студије спроведене на мозговима оболелих од психијатријских поремећаја, показале су да је волумен амигдалоидног комплекса био смањен на рачун његовог латералног и акцесорног једра. Број неурона у амигдалоидном комплексу као и површина тела неурона у овим студијама били су смањени (Berreta i sar, 2007). Bezchlibnyk (2007) је потврдио статистички значајно смањење у величини саме неурона у латералном једру амигдалоидног комплекса у левој хемисфери великог мозга у студији коју је спровео над оболелима од биполарног синдрома и схизофреније. Редукција фактора неурогенезе, као што су: BDNF, IGF-1, NGF, EGF, VEGF (Schmidt i sar, 2007), повезује се са стресом у раном периоду живота. Тиме се додатно може објаснити смањење волумена структура лимбичког система, амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а, као и редукција у броју и површини неурона изложених стресу у матерналној депривацији.

Стрес утиче и на концентрацију различитих неуротрансмитера укључених у процес неурогенезе, као што су: GABA, допамин, ацетилхолин, серотонин, норадреналин (Balci, 2009). У овом истраживању показано је да је број неурона смањен на рачун броја GABA-ергичких инхибиторних интернеурона тј. PV, CB, CR - имунопозитивних интернеурона, као и површине саме ових интернеурона.

Ca - везујући протеини играју важну улогу у одбрани неурона од екситотоксичних оштећења (Goodman i sar, 1993) и изразито су битни за незреле неуроне због њихове осетљивости на инфлукс Ca^{2+} јона (Hogan i Bergman, 1993). Нормална функција амигдалоидног комплекса обезбеђена је реципрочним интеракцијама између принципалних неурона, који представљају пирамидалне неуроне, веома сличне неуронима коре и хипокампуса, (McDonald, 1992) и GABA-ергичких, непирамидалних интернеурона (Rainnie i sar, 1991a,b; Ryan i sar, 2012). Истраживања показују да манипулације фармаколошким средствима која инхибирају GABA-ергичке интернеуроне у

амигдалоидном комплексу доводе до појаве анксиозног понашања и побољшавају страхом условљено учење и активирају страхом условљена сећања (Tang i sar, 2007; Cole i sar, 1995; Sanders i Shekhar, 1995). CB^+ и PV^+ интернеурони локализовани су примарно у базолатералном једру амигдалоидног комплекса, као и у кортикалној амигдаларној групи једара, док је њихов број у медијалном једру амигдалоидног комплекса веома мали (McDonald i Betette, 2001). У амигдалоидном комплексу, CB^+ и PV^+ најчешће су колокализовани на истом интернеурону. PV^+ интернеурони у амигдалоидном комплексу су кошарасте и *Chandelier* ћелије, налик истим ћелијама у кори великог мозга и чине 50% инхибиторних интернеурона (McDonald i Betette, 2001). CR^+ интернеурони чине 25% GABA-ергичких интернеурона у амигдалоидном комплексу. Студије показују да постоји губитак GABA-ергичких интернеурона у шизофренији који смањује инхибиторни тон у лимбичком систему и доприноси доминацији ексцитаторног глутаматергичког утицаја (Reynolds i sar, 2004). Стрес и последично ослобађање глукокортикоида доводе до промене у експресији GAD67, ензима неопходног за синтезу GABA-е, и GABA A рецептора у стрес - сензитивним регионима мозга. На тај начин долази до смањења у броју PV^+ интернеурона и појави анксиозности (Godavarthi i sar, 2014). Интензивно ослобађање глукокортикоида у хипореспондибилном периоду, од 2 - 14. ПНД, доводи до алтерације у броју и локализацији GABA-ергичких интернеурона у лимбичком систему (Bali i sar, 2005). Интензиван развој CB^+ и PV^+ интернеурона у амигдалоидном комплексу, одиграва се током прве две недеље постнаталног живота (Berdel i sar, 1997), те је то и период када се дешавају значајне морфолошке промене у формирању базолатералног једра амигдалоидног комплекса (Berdel i sar, 1997). Развој CB^+ интернеурона започиње раније и претпоставља се зато да су ови интернеурони важни за ћелијску миграцију и диференцијацију (Berdel i sar, 2000). Сматра се да PV^+ интернеурони играју улогу у формирању и матурацији синапси, а ова претпоставка је потврђена и електрофизиолошким студијама (Seo-Hiraiwa i sar, 1995). Коначан број CB^+ и PV^+ интернеурона формира се 14. постнаталног дана (Berdel i sar, 1997). Везе између базолатералног једра амигдалоидног комплекса и других можданих региона, као што је префронтални кортекс, формирају се у првом месецу постнаталног живота (Berdel i sar, 1997). Редукција броја GABA-ергичких интернеурона, као и промена њихове активности у љусци *nucleus accumbens*-а, доводи до појаве хипердопаминергије у лимбичком систему

код психијатријских поремећаја. Caldji и сарадници (2000) показали су да је губитак осетљивости бензодиазепинских GABA A рецептора последица неуроразвојних поремећаја насталих услед раног стреса. Настали поремећај у лимбичким структурама доводи до неофобије и акустичких халуцинација. Рани стрес драматично реорганизује моноаминергичке и пептидергичке кортиколимбичке системе погађајући инхибиторне неуроне (Becker i sar, 2007). Експериментално излагање дексаметазону смањује број CR⁺ и СВ⁺ интернеурона, смањује пролиферацију, фенотипску диференцијацију и миграцију ћелија у лимбичким структурама мозга пацова (Truitt i sar, 2009b). Смањење инхибиторне синаптичке трансмисије доводи до редукције у фреквенци и амплитуди минималног инхибиторног пресинаптичког потенцијала (mIPSC). Анксиозност је повезана са губитком, али и смањеном површином GABA A рецептора. Експерименталне животиње које имају смањену експресију $\alpha 1$ и $\alpha 2$ субјединице GABA A рецептора показују анксиозно понашање (Sibille i sar, 2000).

У нашој студији показано је, одређивањем густине тирозинхидроксилазних (TH⁺) влакана, да концентрација допамина расте у супкортикалним структурама, амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у, код матернално депривираних пацова.

Хипотеза, да абнормално допаминергичко регулисање вентралног *striatum*-а, а посебно *nucleus accumbens*-а, представља главни печат схизофреније, данас је утемељена у бројним истраживањима. Мезолимбичка хипердопаминергија у схизофренији је резултат поремећаја развоја неуронских кругова у теленцефалону који узрокују дисрегулацију функције допаминергичких неурона у средњем мозгу (O'Donnell i Grace, 1998; Grace, 2000; Laguelle, 2000; Lewis i Levitt, 2002). Доказано је да је *nucleus accumbens*, а посебно његова љуска, кључна компонента чији поремећај функције доводи до појаве позитивних симптома схизофреније (O'Donnell i Grace, 1998) као и девијације свести (Gray, 1995). Grace и сарадници (1995) фокусирали су се на везу *nucleus accumbens* - вентрални *pallidum*- медиодорзални таламус - префронтални кортекс како би концептуализовали последице поремећаја протока информација кроз *nucleus accumbens*, које одлазе ка кори великог мозга (O'Donnell i sar, 1997). *Nucleus accumbens* директно утиче на обраду кортикалних информација тако што регулише екситабилност кортикопеталног холинергичког система који полази из медијалног и вентралног *pallidum*-а, посебно из

nucleus basalis telencephalicus-a (Meynert-ово једро), *substantiae innominatae* и *nucleus tractus diagonalis* (Broca) (Sarter i sar, 2005).

Допамин постаје детектабилан у мозгу пацова већ 15. гестацијског дана. Концентрација допамина наставља да расте интензивно и постанално у току прве три недеље постнаталног живота, да би адултну концентрацију досегла између 8. и 9. постнаталне недеље (Kalsbeek i sar, 1992).

Базолатерално једро амигдалоидног комплекса као и *nucleus accumbens* добијају допаминергичку инервацију из вентралне тегменталне области и *substantiae nigrae* (Fallon i Ciofi, 1992; Asan, 1993; 1997; 1998). Ослобађање допамина је у стању стреса много веће у базолатералној групи једара амигдалоидног комплекса него у другим деловима мезолимбичког допаминергичког пута (Inglis i Moghaddam, 1999), што указује на улогу допаминергичких пројекција у генерисању осећања страха и аверзивног понашања (Pezze i Feldon, 2004; La Lumiere i sar, 2004). Допаминергичке пројекције укључене су у патогенезу схизофреније што се огледа у порасту амигдалоидног допамина (Reynolds, 1983). Reynolds (1983) показује да је пораст допамина у амигдалоидном комплексу већи у левој хемисфери великог мозга. Допаминергичка (ТН+) влакна синапсирају са ексцитаторним, глутаматергичким неуронима базолатералног једра амигдалоидног комплекса (Asan, 1997). У *post mortem* студијама, хипердопаминергија је доказана мерењем хомованилне киселине (метаболита допамина), у цереброспиналној течности схизофрених пацијената, као и на основу броја допаминергичких рецептора у специфичним регионима у мозгу. Ове студије су показале пораст концентрације допамина у амигдалоидном комплексу, *nucleus accumbens*-у и *caudatus*-у (Toru, 1988). Toru (1988) је у истој студији показао и повећану активност ТН+ влакана у *accumbens*-у и *caudatus*-у, као индикатору пораста допамина. За разлику од лимбичког система, у кори великог мозга уочена је хиподопаминергија. Управо ова дискрепанција у концентрацији допамина у различитим можданим регионима указује на то да схизофренија даје широк спектар различитих симптома, познатих као позитивни и негативни симптоми (Davis i sar, 1991). Маскау и сарадници (1982) су показали, у студији начињеној *post mortem* на више од 60 схизофрених пацијента, да је концентрација допамина у *nucleus accumbens* и *caudatus*-у веома висока и да није у вези са

неуролептичком терапијом. Дуга конзумација антипсихотика доводи до пораста допаминергичких рецептора у мозгу експерименталних животиња (Burt, 1977).

Студије које су спроведене над пацијентима са само једном, првом психотичном епизодом у развоју болести и нису били подвргнути терапији антипсихотикама, ипак показују да је хипердопаминергија у лимбичким структурама присутна и да је она узрок појаве психотичних симптома (Lieberman i sar, 1997; Yui i sar, 1999a; Laruelle, 2000). У нашем истраживању пацови подвргнути матерналној депривацији нису заживотно примали неуролептичку терапију, већ се могу сматрати групацијом којој није администриран неуролептик, као и у претходним истраживањима. Пораст допамина у лимбичким структурама мозга доводи се и у везу са животним добом. Студије које су рађене на пацијентима млађим од 60. године живота показале су хипердопаминергију у *accumbens*-у и амигдалоидном комплексу са највећим скоком концентрације око 25. године живота (Mackay, 1982). Spokes и сарадници (1980), као и наша студија потврђују да је скок допамина у *accumbens*-у у корелацији са смањењем концентрације GABA-е. Смањење броја GABA-ергичких интернеурона у лимбичком систему тј. смањење инхибиторне инервације принципалних неурона, доводи у шизофренији до надвладавања утицаја допаминергичке инервације, што је и показала наша студија. Оваква симптоматологија, која подразумева пораст допамина у лимбичком систему, пад концентрације GABA-е и редукцију активности ангиотензин - конвертујућег ензима, раније је била позната као „dementia praecox“. Sullivan и Wilson (2006) показали су да матернално депривирани животиње имају пораст TH+ влакана и у љусци и у језгру *nucleus accumbens*-а. *In vivo*, студије микродијализе у *nucleus accumbens*-у, показале су повећање ослобађања допамина у присуству високе концентрације K⁺ јона и D-амфетамина код матернално депривираних пацова (Hall i sar, 1999). Русок и сарадници (1980) су показали да допаминско пражњење у медијалном фронталном кортексу резултира повећаним прометом допамина у *nucleus accumbens*-у што за последицу има и повећавање локомоторне активности. Након овог истраживања и друге студије откривају да се допаминергички систем активира стресом и доводи до повећаног пражњења кортикалног допамина у *accumbens*-у. Сходно томе, King и Finlay (1997) указују на повезаност неуронских кортикалних кола са љуском *nucleus accumbens*-а и појавом симптома шизофреније активираних раним животним стресом.

Допаминаергичка теорија схизофреније у којој постоји хипердопаминаергија у супкортикалним лимбичким структурама, амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у, као последица поремећаја неуроразвоја у раном периоду живота којим је погођен мезолимбички, допаминаергички пут (O'Donnell i Grace, 1998; Grace, 2000; Laruelle, 2000; Lewis i Levit, 2002) у сагласности је и са резултатима добијеним у нашем истраживању.

Промене у холинаергичком систему узроковане раним стресом, у овој студији праћене су одређивањем броја холинаергичких (ChAT+) интернеурона и површине њихове коме у *nucleus accumbens*-у и одређивањем густине холинаергичких (ChAT+) влакана у амигдалоидном комплексу.

Експериментална истраживања показују да је холинаергички систем веома осетљив на утицаје срединских фактора током развоја (Eriksson i sar, 2001; Reddy i sar, 2003; Robinson, 2002; Thomas i sar, 2000). Холинаергички неурони развијају се веома рано у току гестације (10. ембрионалног дана код пацова, што одговара 40. гестационом дану код људи) (Clancy i sar, 2001). Развој холинаергичких неурона затим се наставља током прве две постнаталне недеље, у току којих се формира густа холинаергичка мрежа у *striatum*-у и хипокампусу (Berger-Sweeney, 2003; Hohmann, 2003). Сазревање и виабилност холинаергичких неурона зависи и од присуства низа екстрацелуларних молекула, као што су: NGF, BDNF и кортикостероиди. NGF, BDNF и кортикостероиди регулишу експресију ChAT-а, мењају конективност и утичу на преживљавање холинаергичких неурона (Parikh i sar, 2003; Weickert i sar, 2003; 2005, Corcoran i sar, 2001, 2003). Стрес покреће хипоталамо - хипофизну осовину и доводи до повећаног ослобађања глукокортикоида који доводе до блокаде холинаергичког система и доминације ексцитаторног, глутаматергичког система (Sunanda i sar, 2000)

Резултати нашег истраживања показују смањење броја ChAT+ интернеурона у *nucleus accumbens*-у. ChAT+ интернеурони у *nucleus accumbens*-у чине свега 1-2% укупног броја интернеурона и показују екстензивно аксонско гранање (Bolam i sar, 1984; Meredith i sar, 1989). Унутар *nucleus accumbens*-а допамин и ацетилхолин међусобно реагују и утичу на различите облике понашања. Сматра се да холинаергички интернеурони у *accumbens*-у врше хомеостатску регулацију мезолимбичког допаминаергичког система (Hikida i sar, 2001) и поремећај овог еквилибријума предложен је као један од могућих патолошких

основа Паркинсонове болести и шизофреније (McGeer i McGeer, 1977). Неке бихејвиоралне студије показују да ChaT+ интернеурони у овом једру имају функционално супротну улогу у односу на допамин и супримирају његово деловање при експресивном ослобађању (Hoebel i sar, 2007). Такође, ChaT+ показује колокализацију са CR+ на истом интернеурону. С обзиром да наши резултати показују смањење у броју и површини тела калретинин позитивних ћелија (CR+) и овај резултат је у сагласности са претходним. Holt (1999) је доказао смањење густине ChaT+/CR+ интернеурона у вентралном *striatum*-у тј. *accumbens*-у. Смањење густине ChaT+/CR+ интернеурона је повезано са нелеченим облицима психоза. Сматра се да број ChaT+ интернеурона расте са употребом неуролептика којима се везивањем за D2 рецепторе, покреће механизам опоравка холинергичких интернеурона (Holt, 1999). У вентралном *striatum*-у, допамин и ацетилхолин делују антагонистички. Допамин и његови агонисти инхибирају ослобађање ацетилхолина из ChaT+ интернеурона, *in vivo* и *in vitro* (Eckenstein i Sofroniew, 1983). TH+ влакна која садрже допамин из мезолимбичког пута или *substantiae nigrae*, синапсирају са проксималним дендритима или телом ChaT+ интернеурона (Kubota, 1987). У вентралном *striatum*-у доминантно су присутни мускарински, ацетилхолински M2 и M4 рецептори на принципалним, средњим трнастим неуронима . Доказано је да допамин ослобођен из нигростријалног пута примарно модификује деловање M4 типа мускаринских рецептора (Threlfell i sar, 2010).

У нашем истраживању је показано да матернална депривација, као модел раног стреса, доводи до смањења холинергичке инервације амигдалоидног комплекса. Ацетилхолин - трансфераза (ChaT+) је ензим неопходан у синтези ацетилхолина и користи се за идентификовање холинергичких влакана и проучавање холинергичких инпута и у амигдалоидном комплексу пацова (Hellendall i sar, 1986). Холинергичку инервацију амигдалоидног комплекса обезбеђују холинергички неурони базалног теленцефалона, доминантно из базалног магноцелуларног једра (NBM) и *substantiae innominatae*. Овакву холинергичку инервацију има и кора великог мозга, док је инервација хипокампуса потекла из медијалног септалног једра и дијагоналног једра базалног теленцефалона. Базолатерално једро амигдалоидног комплекса има веома густу холинергичку инервацију која се незнатно разликује од холинергичке инервације вентралног *striatum*-а (Emre, 1993).

У амигдалоидном комплексу ацетилхолин делује доминантно преко никотинских, ацетилхолинских рецептора. Показано је да у амигдалоидном комплексу, хипокампусу и неокортексу доминира $\alpha 7$ - субтип никотинских рецептора. Холинергички неурони базалног магноцелуларног једра изузетно су осетљиви на деловање кортикостеродних хормона (Aisa i sar, 2009). Код животиња, пренатални и постанатни стрес, повећавају активност хипоталамо – хипофизно - адреналне осовине и доводе до протраховане стрес - индуковане секреције глукокортикоида у каснијем животном добу (Maccari i sar, 1995; Vallee i sar, 1999). Пролонгирано деловање хормона стреса доводи до дегенерације холинергичких влакана. Претпоставља се да овај механизам доводи до смањења холинергичке инервације амигдалоидног комплекса тј. смањења броја ChaT+ влакана у амигдалоидном комплексу која су пореклом из базалног теленцефалона (Abraham i sar, 2000). Истраживања показују да је мајчинска брига у постнаталном периоду код пацова довела до пораста броја холинергичких неурона у базалном магноцелуларном једру и холинергичких влакана у лимбичким структурама које исто једро инервише (Macri i sar, 2004). Овај податак је у сагласности и са нашим резултатима с обзиром да сепарација од мајке делује супротно описаном механизму. Студије показују да су холинергички неурони базалног теленцефалона заштићени нервни фактором раста (NGF) и да је њихова нормална функција током живота зависна од овог фактора. Смањење у снабдевању NGF-ом доводи до атрофије и губитка холинергичких неурона базалног теленцефалона (Claudio i Bruno, 2007). Неуроразвојни стрес, као што је матернална депривација, доводи до смањења NGF-а, што је један од разлога повећане осетљивости холинергичких неурона на токсично деловање хормона стреса. Смањење концентрације холинацетилтрансферазе (ChaT), као и ацетилхолинске активности манифестује се деменцијом и поремећајима когниције (Fu i sar, 2004). Постоје студије које показују да естроген делује протективно на холинергичке неуроне у базалном теленцефалону. Ниво естрогена код мушкараца одговара нивоу естрогена код жена у менопаузи. Смањење концентрације естрогена доводи до скраћивања дужине дендрита холинергичких неурона (Kwakowsky i sar, 2016) и измене у холинергичкој инервацији. Наша студија укључивала је само мужјаке пацова што указује на ослобођеност холинергичких неурона протективног деловања естрогена и њихову повећану склоност морфолошким изменама у стресу, као што је матернална депривација.

6. ЗАКЉУЧЦИ

У складу са постављеним циљевима овог истраживања, на основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

1. Рани постнатални стрес, у облику матерналне сепарације, доводи до смањења волумена лимбичких структура, амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а, у мозгу пацова.
2. Смањење волумена лимбичких структура, амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а одиграва се на рачун нервних ћелија тј. смањењем густине Neu N-имунопозитивних ћелија.
3. Неуроразвојни стрес, узрокован матерналном депривацијом, доводи и до смањења површине тела Neu N-имунопозитивних ћелија у лимбичким структурама, амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у, мозга пацова.
4. Матернална сепарација доводи до поремећаја инхибиторног неуротрансмитерског ГАВА-ергичког система у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у мозга пацова.
5. У амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у мозга матернално депривираних пацова густина парвалбумин (PV⁺), калретинин (CR⁺) и калбиндин (CB⁺) позитивних интернеурона је смањена.
6. Рани стрес, у облику одвајања од мајке непосредно након рођења, доводи до смањења површине тела парвалбумин (PV⁺), калбиндин (CB⁺) и калретинин (CR⁺) позитивних ћелија у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у мозга пацова.
7. Матернална сепарација, 9. постнаталног дана, утиче на допаминергички неуротрансмитерски систем, тако што повећава густину тирозинхидроксилазних (TH⁺) влакана у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у мозга пацова.
8. Стрес изазван одвајањем од мајке доводи до измена у холинергичком систему амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а мозга пацова.

9. Матернална депривација изазива стрес који смањује густину ChAT⁺ неурона у *nucleus accumbens*-у мозга пацова.
10. Рано одвајање младунаца од мајке, доводи и до смањења површине ChAT⁺ неурона у *nucleus accumbens*-у мозга пацова.
11. Матернална сепарација смањује холинергичку инервацију амигдалоидног комплекса смањењем густине ChAT⁺ влакана у амигдалоидном комплексу мозга пацова.

Резултати овога истраживања, показују да рани постнатални стрес, у облику матерналне депривације 9. постнаталног дана, узрокује морфолошке промене у амигдалоидном комплексу и *nucleus accumbens*-у мозга пацова што се очитује у смањењу њиховог волумена и површине њихових NeuN имунопозитивних ћелија, снижењу броја парвалбумин позитивних (PV⁺) интернеурона, калретинин позитивних (CR⁺) интернеурона и калбиндин позитивних (CB⁺) интернеурона, смањењу површина тела њихових PV, CR и CB имунопозитивних ћелија, снижењу броја њихових ChAT⁺ интернеурона као и повећању густине њихових TH⁺ имунопозитивних влакана.

Добијени резултати, указују на могућу повезаност морфолошких промена амигдалоидног комплекса и *nucleus accumbens*-а са постнаталним стресом током периода матерналне депривације и на тај начин дају допринос неуроразвојној етиологији схизофреније и бољем разумевању поменуте болести која погађа општу популацију.

7. ЛИТЕРАТУРА

Abraham I, Harkany T, Horvath KM, Veenema AH, Penke B, Nyakas C, Luiten PG (2000). Chronic corticosterone administration dose-dependently modulates A beta (1-42)- and NMDA induced neurodegeneration in rat magnocellular nucleus basalis. *J Neuroendocrinol* 12: 486-494.

Adolphs R, Tranel D, Hamann S, Young AW, Calder AJ, Phelps EA, Anderson A, Lee GP, Damasio AR (1999). Recognition of facial emotion in nine individuals with bilateral amygdala damage. *Neuropsychologia* 37: 1111-1117.

Aisa B, Gil-Bea, FJ, Marcos B, Tordera R, Lasheras B, del Rio J, Ramirez MJ (2009). Neonatal stress affects vulnerability of cholinergic neurons and cognition in the rat: Involvement of the hpa axis. *Psychoneuroendocrinology* 34: 1495–1505.

Ahere WA, Dunnilli MS. *Morphometry*. Edward Arnold, London, 1978.

Aksic M, Radonjic NV, Aleksic D, Jevtic G, Markovic B, Petronijevic N, Radonjic V, Filipovic B (2013). Long-term effects of maternal deprivation on the volume and number of neurons in the rat neocortex and hippocampus. *Acta Neurobiol Exp* 73: 1-10.

Andersen SL, Teicher MH (2008). Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. *Trends Neurosci* 31: 183–191.

Andersen SL (2003). Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27: 3-18.

Andreasen NC, Olsen SA, Dennert JW, Smith MR (1982). Ventricular enlargement in schizophrenia: Relationship to positive and negative symptoms. *Am J Psychiatry* 139: 297-302.

Anticevic A, Tang Y, Cho YT, Repovs G, Cole MW, Savic A, Wang F, Krystal JH, Xu K (2014). Amygdala connectivity differs among chronic, early course, and individuals at risk for developing schizophrenia. *Schizophr Bull* 40: 1105-16.

Armony JL, Corbo V, Clement MH, Brunet A (2005). Amygdala response in patients with acute PTSD to masked and unmasked emotional facial expressions. *Am J Psychiatry* 162: 1961-1963.

Asan E (1993). Comparative single and double immunolabelling with antisera against catecholamine biosynthetic enzymes: criteria for the identification of dopaminergic, noradrenergic and adrenergic structures in selected rat brain areas. *Histochemistry* 99(6): 427–442.

Asan E (1997). Ultrastructural features of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive afferents and their targets in the rat amygdala. *Cell Tissue Res* 288: 449–469.

Asan E (1998). The catecholaminergic innervation of the rat amygdala. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 142: 1–118.

Ascoli GA, Alonso-Nanclares L, Anderson SA, Barrionuevo G, Benavides-Piccione R, Burkhalter A, Buzsaki G, Cauli B, Defelipe J, Fairen A, et al. (2008). Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 9(7): 557–568.

Bale TL, Baram TZ, Brown AS, Goldstein JM, Insel TR, McCarthy MM, Nemeroff CB, Reyes TM, Simerly RB, Susser ES, Nestler EJ (2010). Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biol Psychiatry* 68: 314–319.

Bali B, Erdelyi F, Szabo G, Kovacs KJ (2005). Visualization of stress-responsive inhibitory circuits in the GAD65-eGFP transgenic mice. *Neurosci Lett* 380: 20–27.

Balleine B, Killcross S (1994). Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behav Brain Res* 65(2): 181-93.

Balu DT, Lucki I (2009). Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* 33(3): 232-52.

Baram TZ, Hatalski CG (1998). Neuropeptide-mediated excitability: a key triggering mechanism for seizure generation in the developing brain. *Trends Neurosci* 21: 471-476.

Barnard EA, Skolnick P, Olsen RW, Mohler H, Sieghart W, Biggio G et al. (1998). International union of pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acid A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacol Rev* 50: 291–313.

Barrot M, Sesack SR, Georges F, Pistis M, Hong S, Jhou TC (2012). Braking dopamine systems: a new GABA master structure for mesolimbic and nigrostriatal functions. *J Neurosci* 32(41): 14094-101.

Becker K, Abraham A, Kindler J, Helmeke C, Braun K (2007). Exposure to neonatal separation stress alters exploratory behavior and corticotropin releasing factor expression in neurons in the amygdala and hippocampus. *Dev Neurobiol* 67: 617-629.

Benes FM, Berretta S (2001): GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 25(1): 1-27.

Bennur S, Shankaranarayana Rao BS, Pawlak R, Strickland S, McEwen BS, Chattarji S (2007). Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience* 144(1): 8-16.

Berdel B, Morys J (2000). Expression of calbindin-D28k and parvalbumin during development of rat's basolateral amygdaloid complex. *Int J Dev Neurosci* 18: 501–513.

Berdel B, Morys J, Maciejewska B (1997). Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. *Int J Dev Neurosci* 15(6): 755-65.

Berdel B, Moryś J, Maciejewska B, Dziwiatkowski J (1997). Volume and topographical changes of the basolateral complex during the development of the rat's amygdaloid body. *Folia Morphol (Warsz)* 56(1): 1-11.

Berger-Sweeney J (2003). The cholinergic basal forebrain system during development and its influence on cognitive processes: Important questions and potential answers. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 401–411.

Berretta S, Pantazopoulos H, Lange N (2007). Neuron numbers and volume of the amygdala in subjects diagnosed with bipolar disorder or schizophrenia. *Biol Psychiatry* 62(8): 884–893.

Bezchlibnyk YB, Sun X, Wang JF, MacQueen GM, McEwen BS, Young LT (2007). Neuron somal size is decreased in the lateral amygdalar nucleus of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 32(3):203–210.

Bishop GA, Chang HT, Kitai ST (1982). Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: an intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 179-191.

Blein S, Hawrot E, Barlow P (2000). The metabotropic GABA receptor: Molecular insights and their functional consequences. *Cell Mol Life Sci* 57(4): 635–650.

Bogerts B, Ashtari M, Degreef G, Alvir JMJ, Bilder RM, Lieberman JA (1990). Reduced temporal limbic structure volumes on magnetic resonance images in first episode schizophrenia. *Psychiatry Res* 35: 1-13.

Bolam JP, Wainer BH, Smith AD (1984). Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neuroscience* 12: 711–718.

Boonstra G, van Haren NE, Schnack HG, Cahn W, Burger H, Boersma M, de Koon B, Grobbee DE, Hulshoff Pol HE, Kahn RS (2011). Brain volume changes after withdrawal of atypical antipsychotics in patients with first-episode schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 31: 146-153.

Bowlby J. *Maternal Care and Mental Health*. World Health Organisation, Geneva, 1951.

Bracha HS (1991). Etiology of structural asymmetry in schizophrenia: An alternative hypothesis. [Letter] *Schizophr Bull* 17(4): 551-553.

Branchi I, Cirulli F (2014). Early experiences: building up the tools to face the challenges of adult life. *Dev Psychobiol* 56(8): 1661-74.

Breiter HC, Etcoff NL, Whalen PJ, Kennedy WA, Rauch SL, Buckner RL, Strauss MM, Hyman SE, Rosen BR (1996). Response and habituation of the human amygdala during visual processing of facial expression. *Neuron* 17: 875-887.

Brothers L, Ring B, Kling A (1990). Responses of neurons in the macaque amygdala to complex social stimuli. *Behav Brain Res* 41: 199- 213.

Buchel C, Dolan RJ (2000). Classical fear conditioning in functional neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 10: 219-223.

Burt DR, Creese I, Snyder SH (1977). Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in brain. *Science* 196 (4287): 326-8.

Butterworth P, Cherbuin N, Sachdev P, Anstey KJ (2011). The association between financial hardship and amygdala and hippocampal volumes: results from the PATH through life project. *Soc Cogn Affect Neurosci* 7(5): 548-56.

Caldji C, Diorio J, Meaney MJ (2000). Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biol Psychiatry* 48: 1164-1174.

Cannon M, Caspi A, Moffitt TE, Harrington H, Taylor A, Murray RM, Poulton R (2002). Evidence for early-childhood, pan-developmental impairment specific to schizophreniform disorder. *Arch Gen Psychiatry* 59: 449-56

Caputi A, Rozov A, Blatow M, Monyer H (2009). Two calretinin-positive GABAergic cell types in layer 2/3 of the mouse neocortex provide different forms of inhibition. *Cereb Cortex* 19: 1345-1359.

Carlson NR. *Physiology of Behavior*. Pearson, Boston, 2013.

Carroll JE, Gruenewald TL, Taylor SE, Janicki-Deverts D, Matthews KA, Seeman TE (2013). Childhood abuse, parental warmth, and adult multisystem biological risk in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults study. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 17149-17153.

Caspi A, Moffitt TE (2006). Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 583-90.

Cauli B, Porter JT, Tsuzuki K, Lambomez B, Rossier J, Quenet B, Audinat E (2000). Classification of fusiform neocortical interneurons based on unsupervised clustering. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(11): 6144–6149.

Cirulli F, Francia N, Berry A, Aloe L, Alleva E, Suomi SJ (2009). Early life stress as a risk factor for mental health: role of neurotrophins from rodents to non-human primates. *Neurosci Biobehav Rev* 33(4): 573-85.

Clancy B, Darlington RB, Finlay BL (2001). Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 105: 7–17.

Cluston T (2005). Phthisical insanity. *Hist Psychiatry* 64: 479-95.

Cole BJ, Hillmann M, Seidelmann D, Klewer M, Jones GH (1995). Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 121: 118–126.

Connors BW, Gutnick MJ (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci* 13: 99–103.

Corcoran C, Gallitano A, Leitman D, Malaspina D (2001). The neurobiology of the stress cascade and its potential relevance for schizophrenia. *J Psychiatr Pract* 7: 3–14.

Corcoran C, Walker E, Huot R, Mittal V, Tessner K, Kestler L, Malaspina D (2003). The stress cascade and schizophrenia: Etiology and onset. *Schizophr Bull* 29: 671–692.

Corson PW, Nopoulos P, Andreasen NC, Heckel D, Arndt S (1999). Caudate size in first-episode neuroleptic-naive schizophrenic patient measured using an artificial neural network. *Biol Psychiatry* 46: 712-720.

Crow TJ (1990). Temporal lobe asymmetries as the key to the etiology of schizophrenia. *Schizophr Bull* 16: 433-443.

Cuello AC, Bruno MA, Bell KF (2007). NGF-cholinergic dependency in brain aging, MCI and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 4(4): 351-8.

Davidson RJ, McEwen BS (2012). Social influences on neuroplasticity: stress and interventions to promote well-being. *Nat Neurosci* 15: 689-695.

Davis KL, Kahn R, Ko G (1991). Dopamine in Schizophrenia: A Review and Reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148:11

Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner JC (2009). The brain and the stress axis: the neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *Neuroimage* 47: 864-871.

DeFelipe J (1997). Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. *J Chem Neuroanat* 14(1): 1-19.

Del Rio MR, De Felipe J (1997). Double bouquet cell axons in the human temporal neocortex: relationship to bundles of myelinated axons and colocalization of calretinin and calbindin D-28k immunoreactivities. *J Chem Neuroanat* 13: 243-251.

Di Chiara G (1995). The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend* 38: 95-137.

Driessen M, Herrmann J, Stahl K, Zwaan M, Meier S, Hill A, Osterheider M, Petersen D (2000). Magnetic resonance imaging volumes of the hippocampus and the amygdala in women with borderline personality disorder and early traumatization. *Arch Gen Psychiatry* 57: 1115-1122.

Eckenstein F, Sofroniew MV (1983). Identification of central cholinergic neurons containing both choline acetyltransferase and acetylcholine esterase and of central neurons containing only acetylcholinesterase. *J Neurosci* 3: 2286-2291.

Ellenbroek BA, Cools AR (2002). Early maternal deprivation and prepulse inhibition: The role of the postdeprivation environment. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 177-184.

Ellenbroek BA, Cools AR (1995b). Maternal separation reduces latent inhibition in the conditioned taste aversion paradigm. *Neurosci Res Commun* 17: 27-33.

Emery NJ, Lorincz EN, Perrett DI, Oram MW, Baker CI (1997). Gaze following and joint attention in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Comp Psychol* 111: 1-8.

Emre M, Heckers S, Mash DC, Geula C, Mesulam MM (1993). Cholinergic innervation of the amygdaloid complex in the human brain and its alterations in old age and Alzheimer's disease. *J Comp Neurol* 336(1): 117-34.

Eriksson P, Ankarberg E, Viberg H, Fredriksson A (2001). The developing cholinergic system as target for environmental toxicants, nicotine and polychlorinated biphenyls (PCBs): Implications for neurotoxicological processes in mice. *Neurotox Res* 3: 37–51.

Fallon JH, Ciofi P (1992). Distribution of monoamines within the amygdala. In *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction* (ed. Aggleton J. P.), pp. 97-114. John Wiley, New York.

Ferrer I, Zújar MJ, Rivera R, Soria M, Vidal A, Casas R (1993). Parvalbumin-immunoreactive dystrophic neurites and aberrant sprouts in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 158(2): 163-6.

Fonzo GA, Ramsawh HJ, Flagan TM, Simmons AN, Sullivan SG, Allard CB, Paulus MP, Stein MB (2016). Early life stress and the anxious brain, evidence for a neural mechanism linking childhood emotional maltreatment to anxiety in adulthood. *Psychol. Med* 46. 1037-1054.

Frith C, Dolan R (1996). The role of the prefrontal cortex in higher cognitive functions. *Brain Res Cogn Brain Res* 5(1–2): 175–181.

Fu CH, Williams SC, Cleare AJ, Brammer MJ, Walsh ND, Kim J, Andrew CM, Pich EM, Williams PM, Reed LJ, Mitterschiffhaler MT, Suckling J, Bullmore ET (2004). Attenuation of the neural response to sad faces in major depression by antidepressant treatment: a prospective, event-related functional magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 61: 877–889.

Funder JW (1992). Glucocorticoid receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43(5): 389-94.

Galaburda AM. Asymmetries of cerebral neuroanatomy. In: *Biological Asymmetry and Handedness*. Ciba Foundation Symposium 162. Chichester, England: John Wiley & Sons, 1991. pp. 219-233.

Geschwind N, Levitsky W (1968). Human brain: Left-right asymmetries in temporal speech region. *Science* 161: 186-187.

Gibson JR, Beierlein M, Connors BW (1999). Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature* 402: 75–79.

Giedd JN, Lalonde FM, Celano MJ, White SL, Wallace GL, Lee NR, Lenroot RK (2009). Anatomical brain magnetic resonance imaging of typically developing children and adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 48: 465–470.

Godavarthi SK, Sharma A, Jana NR (2014). Reversal of reduced parvalbumin neurons in hippocampus and amygdala of Angelman syndrome model mice by chronic treatment of fluoxetine. *J Neurochem* 130: 444-454.

Goldberg EM, Clark BD, Zagha E, Nahmani M, Erisir A, Rudy B (2008). K⁺ channels at the axon initial segment dampen near-threshold excitability of neocortical fast-spiking GABAergic interneurons. *Neuron* 58(3): 387–400.

Goldman-Rakic PS (1998). The cortical dopamine system: role in memory and cognition. *Adv Pharmacol* 42: 707-11.

Gong YG, Wu CN, Xing, QH, Zhao XZ, Zhu J, He L (2009). A two-method meta-analysis of Neuregulin 1(NRG1) association and heterogeneity in schizophrenia. *Schizophr Res* 111(1-3): 109-14.

Goodman JH, Wasterlain CG, Massarweh WF, Dean E, Sollas AL, Sloviter RS (1993). Calbindin-D28k immunoreactivity and selective vulnerability to ischemia in the dentate gyrus of the developing rat. *Brain Res* 606(2): 309-14.

Goto Y, O'Donnell P (2001). Network synchrony in the nucleus accumbens in vivo. *J Neurosci* 21: 4498–4504.

Gould E (1994). The effects of adrenal steroids and excitatory input on neuronal birth and survival. *Ann NY Acad Sci* 743: 73–93.

Grace AA (2000). Gating information flow within the limbic system and pathophysiology of schizophrenia brain. *Res Brain Res Rev* 31: 330-341.

Grace AA, Onn SP (1995). Repeated treatment with haloperidol and clozapine exerts differential effects on dye coupling between neurons in subregions of striatum and nucleus accumbens. *J Neurosci* 15(11): 7024-36.

Gray JA (1998). Integrating schizophrenia. *Schizophr Bull* 24: 249-266.

Green MF, Satz P, Smith C, Nelson L (1989). Is there atypical handedness in schizophrenia? *J Abnorm Psychology* 98(1): 57-61.

Gruss M, Braun K, Frey JU, Korz V (2008). Maternal separation during a specific postnatal time window prevents reinforcement of hippocampal long-term potentiation in adolescent rats. *Neuroscience* 3 152 (1):1-7.

Gupta S, Kulhara P (2010). What is schizophrenia: A neurodevelopmental or neurodegenerative disorder or a combination of both? A critical analysis. *Indian J Psychiatry* 52(1): 21-7.

Gur RC, Turetsky BI, Cowell PE, Finkelman C, Maony V, Grossman RI, Arnold SE, Bilker WB (1998). Temporolimbic volume reduction in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 57: 769-775.

Hackman DA, Farah MJ, Meaney MJ (2010). Socioeconomic status and the brain, mechanistic insights from human and animal research. *Nat Rev Neurosci* 11: 651-659.

Haider B, McCormick DA (2008). Rapid neocortical dynamics: cellular and network mechanisms. *Neuron* 62(2): 171-89.

Halgren E, Walter RD, Cherlow DG, Crandall PH (1978). Mental phenomena evoked by electrical stimulation of the human hippocampal formation and amygdala. *Brain* 101: 83-117.

Hall S, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW (1999). Maternal Deprivation of Neonatal Rats Produces Enduring Changes in Dopamine Function. *Synapse* 32: 37-43.

Hanson JL, Nacewicz BM, Sutterer MJ, Cayo AA, Schaefer SM, Rudolph KD, Shirtcliff EA, Pollak SD, Davidson RJ (2015). Behavioral problems after early life stress, contributions of the hippocampus and amygdala. *Biol Psychiatry* 77(4):314-23.

Hasenstaub A, Shu Y, Haider B, Kraushaar U, Duque A, McCormick DA (2005). Inhibitory postsynaptic potentials carry synchronized frequency information in active cortical networks. *Neuron* 47 (3): 423-35.

Hatalski CG, Guirguis C, Baram TZ (1998). Corticotropin releasing factor mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and the central nucleus of the amygdala is modulated by repeated acute stress in the immature rat. *J Neuroendocrinol* 10: 663-669.

Heim C, Nemeroff CB (1999). The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biol Psychiatry* 46: 1509-1522.

Hellendall RP, Godfrey DA, Ross CD, Armstrong DM, Price JL (1986). The distribution of choline acetyltransferase in the rat amygdaloid complex and adjacent cortical areas, as determined by quantitative micro-assay and immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 249: 486-498.

Herman JP, Cullinan WE (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 20: 78-84.

Hikida T, Kaneko S, Isobe T, Kitabatake Y, Watanabe D, Pastan I, Nakanishi S (2001). Increased sensitivity to cocaine by cholinergic cell ablation in nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13351–13354.

Hoebel BG, Avena NM, Rada P (2007). Accumbens dopamine-acetylcholine balance in approach and avoidance. *Curr Opin Pharmacol* 7(6): 617-27.

Hogan D, Berman NE (1993). Transient expression of calbindin-D28k immunoreactivity in layer V pyramidal neurons during postnatal development of kitten cortical areas. *Brain Res Dev Brain Res* 74(2): 177-92.

Hohmann CF (2003). A morphogenetic role for acetylcholine in mouse cerebral neocortex. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 351–363.

Holmes J (1993). Attachment theory: a biological basis for psychotherapy? *Br J Psychiatry* 163: 430-8.

Holt DJ, Herman MM, Hyde TM, Kleinman JE, Sinton CM, German DC, Hersh LB, Graybiel AM, Saper CB (1999). Evidence for a deficit in cholinergic interneurons in the striatum in schizophrenia. *Neuroscience* 94: 21–31.

Huppertz-Kessler CJ, Poeschl J, Hertel R, Unsicker K, Schenkel J (2012). Effects of a new postnatal stress model on monoaminergic neurotransmitters in rat brains. *Brain Dev* 34(4): 274-9.

Ilić A, Blagotić M, Malobabić S, Radonjić V, Prostran M, Toševski J. *Anatomija centralnog nervnog sistema*. Savremena administracija, Beograd, 2004.

Inglis FM, Moghaddam B (1999). Dopaminergic innervation of the amygdala is highly responsive to stress. *J Neurochem* 72: 1088–1094.

Isenberg N, Silbersweig D, Engeliem A, Emmerich S, Malovade K, Beattie B, Leon AC, Stern E (1999). Linguistic threat activates the human amygdala. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 10456-10459.

Ito D, Imai Y, Ohsawa K, Nakajima K, Fukuuchi Y, Kohsaka S (1998). Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Brain Res Mol Brain Res* 57(1): 1-9.

Jašović-Gašić M, Lečić-Toševski D. *Psihijatrija (Udžbenik za studente medicine)*. CIBID, Beograd, 2003.

Johansen JP, Cain CK, Ostroff LE, LeDoux JE (2011). Molecular mechanisms of fear learning and memory. *Cell* 147: 509–524.

Johnstone EC, Owens DGC, Crow TJ, Frith CD, Alexandropoulos K, Bydder G, Coeter (1989). Temporal lobe structure as determined by nuclear magnetic resonance in schizophrenia and bipolar affective disorder. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 52: 736-741.

Jursky F, Tamura S, Tamura A, Mandiyan S, Nelson H, Nelson N (1994). Structure, function and brain localization of neurotransmitter transporters. *J Exp Biol* 196: 283-95.

Kalsbeek A, Buijs RM, van Heerikhuize JJ, Arts M, van der Woude TP (1992). Vasopressin-containing neurons of the suprachiasmatic nuclei inhibit corticosterone release. *Brain Res* 580(1-2): 62-7.

Kaufman J, Plotsky PM, Nemeroff CB, Charney D (2000). Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biol Psych* 48: 778–90.

Kawaguchi Y, Kondo S (2002). Parvalbumin, somatostatin and cholecystokinin as chemical markers for specific GABAergic interneuron types in the rat frontal cortex. *J Neurocytol* 31: 277-287.

Kawaguchi Y, Kubota Y (1997). GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex* 7: 476-486.

Kelley WM, Macrae CN, Wyland CL, Caglar S, Inati S, Heatherton TF (2002). Finding the self? An event-related fMRI study. *J Cogn Neurosci* 14: 785-794.

Kemp JM, Powell TPS (1971). The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Phil Trans R Soc London Ser B* 262: 383-401.

Kendler KS, Thornton LM, Gardner CO (2000). Stressful life events and previous episodes in the etiology of major depression in women, an evaluation of the “kindling” hypothesis. *Am J Psychiatry* 157: 1243-125.

Keshavan MS, Rosenberg D, Sweeney JA, Pettegrew JW (1998). Decrease caudate volume in neuroleptic-naive psychotic patients. *Am J Psychiatry* 155:774-77.

Kikusui T, Mori Y (2009). Behavioural and neurochemical consequences of early weaning in rodents. *J Neuroendocrinol* 21: 427-431.

Kim P, Evans GW, Angstadt M, Ho SS, Sripada CS, Swain JE, Liberzon I, Phan KL (2013). Effects of childhood poverty and chronic stress on emotion regulatory brain function in adulthood. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 18442-18447.

King D, Finlay JM (1997). Loss of dopamine terminals in the medial prefrontal cortex increased the ratio of DOPAC to DA in tissue of the nucleus accumbens shell: role of stress. *Brain Res* 767(2): 192–200.

Kita H, Kitai ST (1988). Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in rat neostriatum: their morphological types and populations. *Brain Res* 447: 346–352.

Kluver H, Bucy PC (1939). Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Arch Neurol Psychiatry* 42: 979-1000.

Knafo A, Jaffee SR (2013). Gene-environment correlation in developmental psychopathology. *Dev Psychopathol* 25(1): 1-6.

Krugers HJ, Marit Arp J, Xiong H, Kanatsou S, Lesuis SL, Korosi A, Joels M, Lucassen PJ (2017). Early life adversity: Lasting consequences for emotional learning. *Neurobiology of Stress* 6: 14-21.

Kubota Y, Inagaki S, Kito S, Wu JY (1987). Dopaminergic axons directly make synapses with GABAergic neurons in the rat neostriatum. *Brain Res* 406: 147- 56.

Kubota Y, Kawaguchi Y (1993). Spatial distributions of chemically identified intrinsic neurons in relation to patch and matrix compartments of rat neostriatum. *J Comp Neurol* 332: 499–513.

Kunugi H, Nanko S, Takei N, Saito K, Hayashi N, Kazamatsuri H (1995). Schizophrenia following in utero exposure to the 1957 influenza epidemics in Japan. *Am J Psychiatry* 152(3): 450-2.

Kwakowsky A, Potapov K, Kim SH, Peppercorn K, Tate WP, Abraham IM (2016). Treatment of beta amyloid 1–42 (A β 1–42)-induced basal forebrain cholinergic damage by a non-classical estrogen signaling activator in vivo. *Scientific Reports* 6: 21101.

Lalumiere RT, Nguyen LT, McGaugh JL (2004). Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. *Eur J Neurosci* 20: 2804–2810.

Laruelle M (2000). The role of endogenous sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: Implications from recent brain imaging studies. *Brain Res Brain Res Rev* 31(2–3): 371–384.

Laruelle M (2000). Imaging synaptic neurotransmission with in vivo binding competition techniques: a critical review. *J Cereb Blood Flow Metab* 20(3): 423-51.

LeDoux JE. *The emotional brain: the mysterious underpinnings of emotional life*. Simon and Schuster, New York, 1996.

LeDoux JE (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23: 155-184.

Lee AL, Ogle WO, Sapolsky RM (2002). Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar Disord* 4: 117-128.

Lewis DA, Levitt P (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci* 25: 409–432.

Liberzon I, Taylor SF, Fig LM, Decker LR, Koeppe RA, Minoshima S (1999). Limbic activation and psychophysiologic responses to aversive visual stimuli. Interaction with cognitive task. *Neuropsychopharmacology* 23: 508-516.

Lieberman JA, Sheitman BB, Kinon BJ (1997). Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: Deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. *Neuropsychopharmacology* 17(4): 205–229.

Liu CH, Jing B, Ma X, Xu PF, Zhang Y, Li F, Wang CY (2014). Voxel-based morphometry study of the insular cortex in female patients with current and remitted depression. *Neuroscience* 262: 190–199.

Llorente-Berzal A, Fuentes S, Gagliano H, López-Gallardo M, Armario A, Viveros MP, Nadal R (2011). Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. *Addict Biol* 16(4): 624-37.

Luchins DJ, Weinberger DR, Wyatt RJ (1982). Schizophrenia and cerebral asymmetry detected by computed tomography. *Am J Psychiatry* 139(6): 753-7.

Maccari S, Piazza PV, Kabbaj M, Barbazanges A, Simon H, Le Moal M (1995). Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *J Neurosci* 15: 110-6.

Mackay AVP, Iversen LL, Rossor M, Spokes E, Bird E, Arregui A, Creese I, Snyder SH (1982). Increased brain dopamine and dopamine receptors in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 39: 991-997.

MacLean PD. *The triune brain in evolution: role in paleocerebral functions*. Plenum Press, New York, 1990.

Macri S, Mason GJ, Würbel H (2004). Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. *Eur. J Neurosci* 20: 1017—1024.

Maheu FS, Dozier M, Guyer AE, Mandell D, Peloso E, Poeth K, Jenness J, Lau JY, Ackerman JP, Pine DS, Ernst M (2010). A preliminary study of medial temporal lobe function in youths with a history of caregiver. *Cogn Affect Behav Neurosci* 10(1): 34-49.

Makino S, Gold PW, Schulkin J (1994). Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res* 657: 141-149.

Malenka RC, Nestler EJ, Hyman SE, Sydor A, Brown RY, eds. *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience* (2nd ed). New York: McGraw-Hill Medical. pp. 147–148, 376, 2009.

Malobabić S, Gudović R. *Klinička neuroanatomija*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 1995.

Malobabić S, Krivokuća D, Puškaš L. *Osnovni principi funkcionalne neuroanatomije*. Quark, Beograd, 2007.

Marco EM, Llorente R, López-Gallardo M, Mela V, Llorente-Berzala A, Prada C, Viverosa MP (2015). The maternal deprivation animal model revisited. *Neurosci Biobehav Rev* 51: 151–163.

Marco EM, Adriani W, Llorente R, Laviola G, Viveros MP (2009). Detrimental psychophysiological effects of early maternal deprivation in adolescent and adult rodents: altered responses to cannabinoid exposure. *Neurosci Biobehav Rev* 33: 498–507.

Marco EM, Macri S, Laviola G (2011). Critical age windows for neurodevelopmental psychiatric disorders: evidence from animal models. *Neurotox Res* 19: 286–307.

Maren S (2001). Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu Rev Neurosci* 24: 897–931.

Marin O (2012). Interneuron dysfunction in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 13(2): 107–120.

Marinković S, Filipović B, Puškaš L. *Anatomija čoveka*. Planeta print, Beograd, 2016.

Mark LP, Daniels DL, Naidich TP, Williams AL (1993). Hippocampal anatomy and pathologic alterations on conventional MR images. *AJNR Am J Neuroradiol* 14: 1237–40.

Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5: 793–807.

Martin DL, Olsen RW (Eds.). *GABA in the Nervous System: The View at Fifty Years*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000.

Martínez-García F, Novejarque A, Gutiérrez-Castellanos N, Lanuza E. Piriform cortex and amygdala. In C. Watson, G. Paxinos, & L. Puelles (Eds.). *The Mouse Nervous System* (pp. 140–172). Academic Press, San Diego, 2012.

Mascagni F, McDonald AJ (2009). Parvalbumin-immunoreactive neurons and GABAergic neurons of the basal forebrain project to the rat basolateral amygdala. *Neuroscience* 160(4): 805–12.

McCarley RW, Hsiao JK, Freedman R, Pfefferbaum A, Donchin E (1996). Neuroimaging and the cognitive neuroscience of schizophrenia. *Schizophr Bull* 22: 703–725.

McCrorry EJ, De Brito SA, Sebastian CL, Mechelli A, Bird G, Kelly PA, Viding E (2011). Heightened neural reactivity to threat in child victims of family violence. *Curr Biol* 21: 947–948.

McDonald AJ. Cell types and intrinsic connections of the amygdala. In *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction* (ed. Aggleton J. P.), pp. 67–96. Wiley-Liss, New York. 1992.

McDonald AJ, Betette RL (2001). Parvalbumin-containing neurons in the rat basolateral amygdala: morphology and co-localization of Calbindin-D(28k). *Neuroscience* 102: 413–425.

McEwen BS, De Kloet ER, Rostene W (1986). Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiol Rev* 66: 1121–1188.

McEwen BS, Gould EA, Sakai RR (1992). The vulnerability of the hippocampus to protective and destructive effects of glucocorticoids in relation to stress. *Br J Psychiatry Suppl* 15: 18-23.

McGeer PL, McGeer EG (1977). Possible changes in striatal and limbic cholinergic systems in schizophrenia. *Archs Gen Psychiat* 34: 1319–1323.

Meredith GE, Blank B, Groenewegen JH (1989). The distribution and compartmental organization of the cholinergic neurons in nucleus accumbens of the rat. *Neurosci* 31: 328-345.

Meskenaite V (1997). Calretinin-immunoreactive local circuit neurons in area 17 of the cynomolgus monkey, *Macaca fascicularis*. *J Comp Neurol* 379: 113-132.

Meyer U, Feldon J (2010). Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. *Progress in Neurobiol* 90: 285-326.

Miller KD, Pinto DJ, Simons DJ (2001). Processing in layer 4 of the neocortical circuit: new insights from visual and somatosensory cortex. *Curr Opin Neurobiol* 11: 488–497.

Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY (1980). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 14: 69-97.

Morgan C, Kirkbride J, Leff J, Craig T, Hutchinson G, McKenzie K, Morgan K, Dazzan P, Doody GA, Jones P, Murray R, Fearon P (2007). Parental separation, loss and psychosis in different ethnic groups: a case-control study. *Psychol Med* 37: 495–503.

Namiki C, Hirao K, Yamada M, Hanakawa T, Fukuyama H, Hayashi T, Murai T (2007). Impaired facial emotion recognition and reduced amygdalar volume in schizophrenia. *Psychiatry Res* 156: 23-32.

Nestler EJ, Hyman SE (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 13(10): 1161-9.

Newport DJ, Stowe ZN, Nemeroff CB (2002). Parental depression: Animal models of an adverse life event. *Am J Psych* 159: 1265–1283.

O'Donnell P; Grace AA (1998). Dysfunctions in multiple interrelated systems as the neurobiological bases of schizophrenic symptom clusters. *Schizophr Bull* 24: 267–283.

Okada N, Fukunaga M, Yamashita F, Koshiyama D, Yamamori H, Ohi K, Yasuda Y, Fujimoto M, Watanabe Y, Yahata N, Nemoto K, Hibar DP, van Erp TG, Fujino H, Isobe M, Isomura S, Natsubori T, Narita H, Hashimoto N, Miyata J, Koike S, Akahashi T, Yamasue H, Matsuo K, Onitsuka T, Iidaka T, Kawasaki Y, Yoshimura R, Watanabe Y, Suzuki M, Turner JA, Takeda M, Thompson PM, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R (2016). Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. *Mol Psychiatry* doi: 10.1038/mp.2015.209.

Olney JW, Farber NB (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatr* 52(12): 998-1007.

Ono M, Kikusui T, Sasaki N, Ichikawa M, Mori Y, Murakami- Murofushi K (2008). Early weaning induces anxiety and precocious myelination in the anterior part of the basolateral amygdala of male Balb/c mice. *Neuroscience* 156: 1103-1110.

Own LS, Patel PD (2013). Maternal behavior and offspring resiliency to maternal separation in C57B/6 mice. *Horm Behav* 60: 411-419.

Pakkenberg B (1990). Pronounced reduction of total neuron number in mediodorsal thalamic nucleus and nucleus accumbens in schizophrenics. *Arch Gen Psych* 47: 1023-1028.

Pantel J, Schroder J, Essig M, Schad LR, Popp D, Eysenbach K, Jauss M, Knopp MV (1998). Volumetric brain findings in late depression. A study with quantified magnetic resonance tomography. *Nervenarzt* 69: 968-974.

Pape HC, Pare D (2010). Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. *Physiol Rev* 90: 419–463.

Papez JW (1937). A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psych* 38: 725–743.

Parikh V, Evans DR, Khan MM, Mahadik SP (2003). Nerve growth factor in nevermedicated first-episode psychotic and medicated chronic schizophrenic patients: Possible implications for treatment outcome. *Schizophr Res* 60: 117–123.

Parkinson JA, Willoughby PJ, Robbins TW, Everitt BJ (2000). Disconnection of the anterior cingulate cortex and nucleus accumbens core impairs Pavlovian approach behavior: further evidence for limbic cortical-ventral striatopallidal systems. *Behav Neurosci* 114(1): 42–63.

Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (7th ed). San Diego: Academic Press, 2014.

Pezze MA, Feldon J (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol* 74: 301–320.

Phillips ML, Young AW, Scott SK, Calder AJ, Andrew AJ, Giampietro V, Williams SC, Bullmore ET, Brammer M, Gray JA (1998). Neural responses to facial and vocal expressions of fear and disgust. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265: 1809-1817.

Pinto DJ, Brumberg JC, Simons DJ (2000). Circuit dynamics and coding strategies in rodent somatosensory cortex. *J Neurophysiol* 83(3): 1158-66.

Pirumyan K, Boyajyan A (2014). Study of association between schizophrenia and functional polymorphisms of genes encoding Bcl-2 family proteins. *International Journal of Biological Sciences and Applications* 1(1): 28-34.

Porter JT, Cauli B, Staiger JF, Lambolez B, Rossier J, Audinat E (1998). Properties of bipolar VIPergic interneurons and their excitation by pyramidal neurons in the rat neocortex. *Eur J Neurosci* 10: 3617-3628.

Pouille F, Scanziani M. (2001). Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science* 293: 1159–1163.

Poulin JF, Castonguay-Lebel Z, Laforest, S, Drolet G (2008). Enkephalin co-expression with classic neurotransmitters in the amygdaloid complex of the rat. *J Comp Neurol* 506: 943–959.

Pryce CR (1996). Socialization, hormones and the regulation of maternal behavior in nonhuman simian primates. *Adv Stud Anim Behav* 25: 423–73.

Pryce CR, Feldon J (2003). Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 57–71.

Purves D et al, editors, *Fundamental Neuroscience*. 4th edition, Elsevier, 2001.

Pycock Ci, Kerwin RW, Carter Ci (1980). Effect of lesion of cortical dopamine terminals on subcortical dopamine receptors in rats. *Nature* 286: 74-76.

Rainnie DG, Asprodini EK, Shinnick-Gallagher P (1991). Inhibitory transmission in the basolateral amygdala. *J Neurophysiol* 66: 999– 1009.

Rainnie DG, Asproдини EK, Shinnick-Gallagher P (1991). Excitatory transmission in the basolateral amygdala. *J Neurophysiol* 66: 986–997.

Rajmohan V, Mohandas E (2007). The limbic system. *Indian J Psychiatry* 49 (2): 132-139.

Rauch SL, Whalen PJ, Shin LM, McInerney SC, Macklin ML, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK (2000). Exaggerated amygdala response to masked facial stimuli in posttraumatic stress disorder: a functional MRI study. *Biol Psychiatry* 47: 769-776.

Reddy GR, Basha MR, Devi CB, Suresh A, Baker JL, Shafeek A, Heinz J, Chetty CS (2003). Lead induced effects on acetylcholinesterase activity in cerebellum and hippocampus of developing rat. *Int. J Dev Neurosci* 21: 347–352.

Reul JM, de Kloet ER (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117 (6): 2505-11.

Reynolds GP, Abdul-Monim Z, Reynolds GP, Zuhail Neill JC, Zhang Z (2004). Calcium Binding Protein Markers of GABA Deficits in Schizophrenia - Post Mortem Studies and Animal Models. *Neurotox Res* 6: 57–61.

Reynolds GP (1983). Increased concentrations and lateral asymmetry of amygdala dopamine in schizophrenia. *Nature* 305: 527-529.

Roberts MD, Gilpin L, Parker KE, Childs TE, Will MJ, Booth FW (2012). Dopamine D1 receptor modulation in nucleus accumbens lowers voluntary wheel running in rats bred to run high distances. *Physiol Behav* 105(3): 661-8.

Robinson L, Platt B, Riedel G (2011). Involvement of the cholinergic system in conditioning and perceptual learning. *Behav Brain Res* 221(2): 443-65.

Robinson SE (2002). Effects of perinatal buprenorphine and methadone exposures on striatal cholinergic ontogeny. *Neurotoxicol Teratol* 24: 137–142.

Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA (2002). Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus: implications for cellular plasticity. *Mol Psychiatry* 7: 609-616.

Rolls ET (1992). Neurophysiology and functions of the primate amygdala. In: Aggleton JP, editor. *The amygdala: neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction*. New York: Wiley-Liss, 143–65.

Rudy B, Fishell G, Lee S, Hjerling-Leffler J (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Dev Neurobiol* 71(1)45–61.

Russchen FT, Amaral DG, Price JL (1985). The afferent connections of the substantia innominata in the monkey, *Macaca fascicularis*. *J Comp Neurol* 242: 1-27.

Russchen FT, Bakst I, Amaral DG, Price JL (1985a). The amygdalostriatal projections in the monkey. An anterograde tracing study. *Brain Res* 329: 241-257.

Ryan SJ, Ehrlich DE, Jasnow AM, Daftary S, Madsen TE, Rainnie DG (2012). Spike-timing precision and neuronal synchrony are enhanced by an interaction between synaptic inhibition and membrane oscillations in the amygdala. *PLoS One* 7: e35320.

Sabatini MJ, Ebert P, Lewis DA, Levitt P, Cameron JL, Mirnics K (2007). Amygdala gene expression correlates of social behavior in monkeys experiencing maternal separation. *J Neurosci* 27: 3295-3304.

Sackett GP (1972). Prospects for research on schizophrenia. 3. Neurophysiology. Isolation-rearing in primates. *Neurosci Res Program Bull* 10(4): 388-92.

Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia D, Power, J (2003). The Amygdaloid Complex: Anatomy and Physiology. *Physiol Rev* 83: 803-834.

Salgado S, Kaplitt MG (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg* 93:75–93.

Salzberg M, Kumar G, Supit L, Jones NC, Morris MJ, Rees S, O'Brien T, Salzberg MR (2007). Early postnatal stress confers enduring vulnerability to limbic epileptogenesis. *Epilepsia* 48: 2079-2085.

Sanders SK, Shekhar A (1995). Regulation of anxiety by GABAA receptors in the rat amygdala. *Pharmacol Biochem Behav* 52(4):701-6.

Sarter M, Nelson CL, Bruno JP (2005). Cortical cholinergic transmission and cortical information processing in schizophrenia. *Schizophr Bull* 31: 117–138.

Schmahl CG, Vermetten E, Elzinga BM, Bremner DJ (2003). Magnetic resonance imaging of hippocampal and amygdala volume in women with childhood abuse and borderline personality disorder. *Psychiatry Res* 122(3): 193–198.

Schmidt HD, Duman RS (2007). The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol* 18: 391–418.

Seo-Hiraiwa ML, Seto-Ohshima A, Kato K (1995). The surface evoked potential and parvalbumin-immunoreactivity in the somatosensory cortex of the developing rat. *Dev Psychobiol* 28(6): 337-51.

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 49: 1 -52.

Shin LM, Orr SP, Carson MA, Rauch SL, Macklin ML, Lasko NB, Peters PM, Metzger LJ, Dougharty DD, Cammistraro PA, Alpert NM, Fischman AJ, Pitman RK (2004). Regional cerebral blood flow in the amygdala and medial prefrontal cortex during traumatic imagery in male and female Vietnam veterans with PTSD. *Arch Gen Psychiatry* 61: 168-176.

Shirayama Y, Chaki S (2006). Neurochemistry of the Nucleus Accumbens and its Relevance to Depression and Antidepressant Action in Rodents. *Curr Neuropharmacol* 4: 277-291.

Sibille E, Pavlides C, Benke D, Toth M (2000). Genetic inactivation of the Serotonin(1A) receptor in mice results in downregulation of major GABA(A) receptor alpha subunits, reduction of GABA(A) receptor binding, and benzodiazepine-resistant anxiety. *J Neurosci* 20(8): 2758-65.

Sibley DR, Ventura AL, Jiang D, Mak C (1998). Regulation of the D1 dopamine receptor through cAMP-mediated pathways. *Adv Pharmacol* 42: 447-50.

Soriano E, Del Rio JA (2005). The cells of cajal-retzius: still a mystery one century after. *Neuron* 46 (3): 389-94.

Spokes EGS, Garrett NJ, Rossor MN, Iversen LL (1980). Distribution of GABA in post-mortem brain tissue from control, psychotic and Huntington's chorea subjects. *J Neurol Sci* 48: 303-313.

Stefanović B, Đorđević-Čamba V, Miloš Bajčetić M. Integrativna neurobiologija (ćelijska i tkivna neurologija). Mikro knjiga. Beograd, 2003.

Stiles J, Jernigan TL (2010). The basics of brain development. *Neuropsychol Rev* 20: 327-348.

Sullivan R, Wilson DA, Feldon J, Yee BK, Meyer U, Richter-Levin G, Avi A, Michael T, Gruss M, Bock J, Helmeke C, Braun K (2006). The International Society for Developmental Psychobiology annual meeting symposium: Impact of early life experiences on brain and behavioral development. *Dev Psychobiol* 48(7): 583-602.

Sullivan RM, Holman PJ (2010). Transitions in sensitive period attachment learning in infancy: the role of corticosterone. *Neurosci Biobehav Rev* 34: 835-844.

Sunanda Rao BS, Raju TR (2000). Restraint stress-induced alterations in the levels of biogenic amines, amino acids, and AChE activity in the hippocampus. *Neurochem Res* 25(12): 1547-52.

Swanson LW, Petrovich GD (1998). What is the amygdala? *Trends Neurosci* 21: 323–331.

Swayze VW, Andreasen NC, Ailiger RJ, Yuh WTC, Ehrhardt JC (1992). Subcortical and temporal structures in affective disorder and schizophrenia: A magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiat* 31: 220-240.

Szabadics J, Varga C, Molnár G, Oláh S, Barzó P, Tamás G (2006). Excitatory effect of GABAergic axo-axonic cells in cortical microcircuits. *Science* 311(5758): 233-235.

Tang HH, McNally GP, Richardson R (2007). The effects of FG7142 on two types of forgetting in 18-day-old rats. *Behav Neurosci* 121: 1421–1425.

Taylor P, Brown JH (2006). Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Ed., LL. Brunton, JS. Lazo and KL. Parker (Eds.), McGraw-Hill Med. Publ. Div, New York, p. 183-200.

Teicher MH, Tomoda A, Andersen SL (2006). Neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment: are results from human and animal studies comparable? *Ann NY Acad Sci* 1071: 313–323.

Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM (2003). The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 33-44.

Teicher MH, Samson JA, Anderson CM, Ohashi K (2016). The effects of childhood maltreatment on brain structure, function and connectivity. *Nat Rev Neurosci* 17: 652-666.

Thomas JD, La Fiette MH, Quinn VR, Riley EP (2000). Neonatal choline supplementation ameliorates the effects of prenatal alcohol exposure on a discrimination learning task in rats. *Neurotoxicol Teratol* 22: 703–711.

Threlfell S, Clements MA, Khodai T, Pienaar IS, Exley R, Wess J, Cragg SJ (2010). Striatal muscarinic Receptors promote activity dependence of dopamine transmission via distinct receptor subtypes on cholinergic interneurons in ventral versus dorsal striatum. *J Neurosci* 30: 3398–3408.

Toru M, Watanabe S, Shibuya H, Nishikawa T, Noda K, Mitsushio H, Ichikawa H, Kurumaji A, Takashima M, Mataga N, Ogawa A (1988). Neurotransmitters, receptors and neuropeptides in post-mortem brains of chronic schizophrenic patients. *Acta Psychiatr Scand* 78: 121-137.

Tottenham N, Hertzog ME, Gillespie-Lynch K, Gilhooly T, Millner AJ, Casey BJ (2013). Elevated amygdala response to faces and gaze aversion in autism spectrum disorder. *Soc Cogn Affect Neurosci* 9(1): 106-17.

Tottenham N, Sheridan MA (2009). A review of adversity, the amygdala and the hippocampus: a consideration of developmental timing. *Front Hum Neurosci* 3: 68.

Tottenham N, Hare TA, Millner A, Gilhooly T, Zevin JD, Casey BJ (2011). Elevated amygdala response to faces following early deprivation. *Dev Sci* 14: 190-204.

Truitt WA, Johnson PL, Dietrich AD, Fitz SD, Shekhar A (2009). Anxiety-like behavior is modulated by a discrete subpopulation of interneurons in the basolateral amygdala. *Neuroscience* 160(2): 284-94.

Uljarević M, Nešić M (2008). Uloga pojedinih struktura mozga u percepciji i ekspresiji emocija. *Godišnjak za psihologiju* 5: 41-62.

Vallee M, MacCari S, Dellu F, Simon H, Le Moal M, Mayo W (1999). Long-term effects of prenatal stress and postnatal handling on age-related glucocorticoid secretion and cognitive performance: a longitudinal study in the rat. *Eur J Neurosci* 11: 2906–2916.

Veer IM, Oei NY, van Buchem MA, Spinhoven P, Elzinga BM, Rombouts SA (2015). Evidence for smaller right amygdala volumes in posttraumatic disorder following childhood trauma. *Psychiatry Res* 233(3): 436-42.

Viveros MP, Díaz F, Mateos B, Rodríguez N, Chowen JA (2010). Maternal deprivation induces a rapid decline in circulating leptin levels and sexually dimorphic modifications in hypothalamic trophic factors and cell turnover. *Horm Behav* 57 (4-5): 405-14.

Vivinetto AL, Suarez MM, Rivarola MA (2013). Neurological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. *Behav Brain Res* 240: 110-118.

Voorn P, Kalsbeek A, Jorritsma-Byham B, Groenewegen HJ (1988). The pre- and postnatal development of the dopaminergic cell groups in the ventral mesencephalon and the dopaminergic innervation of the striatum of the rat. *Neurosci* 25(3): 857-87.

Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S (2002). Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22 (15): 6810–6818.

Weickert CS, Hyde TM, Lipska BK, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE (2003). Reduced brain-derived neurotrophic factor in prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 8: 592–610.

Weickert CS, Ligons DL, Romanczyk T, Ungaro G, Hyde TM, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE (2005). Reductions in neurotrophin receptor mRNAs in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 10: 637-650.

Wise RA (1982). Neuroleptics and operant behavior: The anhedonia hypothesis. *Behav Brain Sci* 5: 39–87.

Woolley CS, McEwen BS (1992). Estradiol mediates fluctuations in hippocampal synapses density during the estrous cycle in the adult rat. *J Neurosci* 12: 2549-2554.

Workman AD, Charvet CJ, Clancy B, Darlington RB, Finlay BL (2013). Modeling transformations of neurodevelopmental sequences across mammalian species. *J Neurosci* 33: 7368-7383.

Xu X, Callaway EM (2009). Laminar specificity of functional input to distinct types of inhibitory cortical neurons. *J Neurosci* 29(1): 70–85.

Xu H, Hu W, Zhang X, Gao W, Liang M, Chen T, He X, Hu Z (2011). The effect of different maternal deprivation paradigms on the expression of hippocampal glucocorticoid receptors, calretinin and calbindin-D28k in male and female adolescent rats. *Neurochem Int* 59: 847–852.

Yakovlev PI (1948). Motility behavior and the brain: Stereodynamical organization and the neural coordinates of behavior. *J Nerv Ment Dis* 107: 313–35.

Yui K, Goto K, Ikemoto S, Ishiguro T, Angrist B, Duncan GE, Sheitman BB, Lieberman JA, Bracha SH, Ali SF (1999). Neurobiological basis of relapse prediction in stimulant-induced psychosis and schizophrenia: The role of sensitization. *Mol Psychiatry* 4(6): 512–523.

Zimmerberg B, Shartrand AM (1992). Temperature-dependent effects of maternal separation on growth, activity, and amphetamine sensitivity in the rat. *Dev Psychobiol* 25: 213–26.

Списак скраћеница

Acetyl-CoA- acetil-koenzim A	Nc. Accumbens- nucleus accumbens
ACo- prednja kortikalna amigdala	Neu N- neuronski nuklearni antigen
AHi- amigdalo-hipokampalna oblast	NGF- nervni faktor rasta
Amyg- amigdala	PBS- fosfatni rastvor pufera
Apir- amigdalo-piriformna tranziciona zona	PLCo– posterolateralno kortikalno jedro
BDNF- neurotrofni moždani faktor	PLCo– zadnje-lateralno kortikalno jedro
BL– bazolateralno jedro	PMCo– posteromedijalno kortikalno jedro
BM- bazomedijalno jedro	PMCo– prednje-medijalno kortikalno jedro
CB- kalbindin	PV- parvalbumin
Ce– centralno jedro	SSA- sukcinski semialdehid
ChAT- holin-acetil transferaza	VAcHT- vezikularni holinergički transporter
CR- kalretinin	VEGF- vaskularni endotelijalni faktor rasta
CxA- kortiko-amigdaloidna tranziciona zona	VTA- ventralna tegmentalna oblast
DAT- dopaminski transporter	MAO- monoaminoooksidaza
DOPA- dihidroksifenilalanin	MД- maternalna deprivacija
EGF- epidermalni faktor radta	ПНД- postnatalni dam
GABA- gama amino buterna kiselina	TH- tirozinhidroksilaza
GAD- dekarboksilza glutaminske kiseline	TTKS– tetradoksin-senzitivan
IGF-1- insulinu slični faktor rasta 1	
La- lateralno jedro	
LOT- lateralni olfaktivni put	
Me- medijalno jedro	
mIPSC- minimalni inhibitorni presinaptički potencijal	
MRI- magnetna rezonanca	
NBM- nucleus basalis magnocellularis	

БИОГРАФИЈА

Др Дубравка Алексић је рођена 16.10.1985. године у Београду.

На Медицинском факултету Универзитета у Београду. дипломирала је 2010. године са просечном оценом током студирања 9,15. Др Дубравка Алексић је и као студент учествовала у научно- истраживачком раду из чега су произашли радови презентовани на студентским конгресима у земљи и иностранству.

У периоду од 2011.године до данас је запослена као сарадник на пројекту Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије „Морфолошке промене на мозгу код особа са транссексуализмом, другим поремећајима полног идентитета и развојних психијатријских поремећаја“. Од јануара 2012.године до данас, запослена је на Институту за анатомију „Нико Миљанић“ Медицинског факултета, Универзитета у Београду, у звању асистента на катедри за ужа научну област Анатомија. Специјалистичке студије из области Радиологије уписала је октобра 2014.године на Медицинском факултету у Београду. Докторске студије из области Неуронаука уписала је 2011.године на Медицинском факултету у Београду под менторством Доц. др Милана Аксића.

Аутор је бројних научно-истраживачких радова од којих је 7 публиковано у часописима са JCR листе. Такође, је аутор више поглавља у уџбеницима, као и бројних саопштења са научних скупова.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Dubravka Aleksić _____

broj upisa NN 11/11 _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„ Morfološke promene u limbičkim strukturama mozga pacova uslovljene maternalnom deprivacijom“

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

Potpis doktoranta

U Beogradu, ____22.5.2017.____

D. Aleksić

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora __Dubravka Aleksić_____

Broj upisa __NN 11/ 11_____

Studijski program __Neuronauke_____

Naslov rada __" Morfološke promene u limbičkim strukturama mozga pacova
uslovljene maternalnom deprivacijom"_____

Mentor _____Doc.dr Milan Aksić_____

Potpisani __Dubravka Aleksić_____

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

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

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

Potpis doktoranta

U Beogradu, __22.5.2017._____

D. Aleksić

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

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

„ Morfološke promene u limbičkim strukturama mozga pacova uslovljene maternalnom deprivacijom „

koja je moje autorsko delo.

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

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

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

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

Potpis doktoranta

U Beogradu, _____22.5.2017._____

D. Aleksić

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.