Učinci pentadekapeptida BPC 157 i interakcija s NO-spojevima u eksperimentalnom modelu psihoze na štakorima

Zemba Čilić, Andrea

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:724299

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Andrea Zemba Čilić

Učinci pentadekapeptida BPC 157 i interakcija s NO–spojevima u eksperimentalnom modelu psihoze na štakorima

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Andrea Zemba Čilić

Učinci pentadekapeptida BPC 157 i interakcija s NO–spojevima u eksperimentalnom modelu psihoze na štakorima

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Rad je izrađen u Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelji rada: Izv. prof. Alenka Boban Blagaić, dr. vet.
Prof. dr.sc. Predrag Sikirić, dr. med.

Zahvaljujem. izv. prof. dr. sc. Alenki Boban Blagaić i prof. dr.sc. Predragu Sikiriću, voditeljima rada na podršci, pomoći i nesebičnome trudu, bez kojih realizacija ovog rada ne bi bila moguća. Posebna zahvala izv. prof. Pašku Konjevodi na svesrdnoj pomoći u statističkoj obradi rezultata i svoj drugoj pomoći pri izradi ovog rada. Također se zahvaljujem i Ivanu Gržibovskom i ostalim djelatnicima Zavoda koji su pomogli u izvođenju pokusa te vodili brigu o eksperimentalnim životinjama.

In memoriam

Marko

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. DOPAMINSKI PUT U LIJEČENJU SHIZOFRENIJE 1

1.2. ULOGA DONORA NO-A I INHIBITORA NOS U SHIZOFRENIJI 3

1.2.1. Uloga donora NO u shizofreniji 3

1.2.2. Uloga inhibitora sinteze dušikovog oksida (NOS) u shizofreniji 7

1.3. BPC 157 ŽELUČANI PENTADEKAPEPTID 12

1.3.1. Pentadekapeptid BPC 157 i učinak na središnji živčani sustav 12

1.3.2. Odnos stabilnog želučanog pentadekapeptida BPC 157 i NO sustava 17

1.4. ULOGA MODELA NA ŽIVOTINJAMA U PROCJENI POTENCIJALNO NOVIH NAČINA LIJEČENJA 18

1.4.1. Modeli lokomotorne hiperaktivnosti i stereotipije 20

1.4.2. Model kognitivnog poremećaja induciran ketaminom (deficit prepoznavanja novog objekta, NORT) 22

1.4.3. Modeli negativnih simptoma inducirani ketaminom 23

1.4.3.1. Test otvorenog polja (OFT) 23

1.4.3.2. Test anhedonije 23

1.4.3.3. Test socijalne interakcije (SIT) 24

1.4.4. Test katalepsije 24

1.4.5. Test olanzapinom-inducirane intolerancije glukoze / rezistencije na inzulin 24

1.4.6. Test metamfetaminom induciranog stanja senzibilizacije 25

2. HIPOTEZA 27

3. CILJEVI RADA 28

3.1. OPĆI CILJEVI RADA 28

3.2. SPECIFIČNI CILJEVI RADA 28

4. MATERIJALI I METODE 29

4.1. VRSTA ISTRAŽIVANJA 29

4.2. POKUSI 29

4.2.1. Pokusne životinje 29

4.2.2. Lijekovi 29

4.2.3. Grupe pokusa 30

4.3. OCJENA PONAŠANJA EKSPERIMENTALNIH ŽIVOTINJA 31

4.3.1. Mjerenje motorne aktivnosti izazvane amfetaminom i apomorfinom 31

4.3.2. Mjerenje motorne aktivnost izazvana s MK-801 31

4.3.3. Ocjena kognitivnog deficita induciranog ketaminom (test prepoznavanja novog objekta, NORT) 32

4.3.4. Ocjena ponašanja u modelima negativnih simptoma induciranih ketaminom 33

4.3.4.1. Ocjena aktivnosti u testu otvorenog polja (Open field test, OFT) 33

4.3.4.2. Ispitivanje sklonosti saharozi (sucrose preference test, SPT) 34

4.3.4.3. Ispitivanje socijalne interakcije (test socijalne interakcije, SIT) 34

4.3.5. Određivanje katalepsije ... *34*
4.3.6. Mjerenje olanzapinom inducirane intolerancije glukoze i katalepsije ... *35*
4.3.6.1. Mjerenje olanzapinom inducirane intolerancije glukoze u GTT-u ... 35
4.3.6.2. Mjerenje sklonosti ekstrapiramidalnim nuspojavama (EPS) induciranim olanzapinom ... 35
4.3.7. Određivanje metamfetaminom inducirane lokomotorne senzibilizacije ... *36*
4.4. ANALIZA PODATAKA ... 38
5. REZULTATI ... 39
5.1. MOTORIČKA AKTIVNOST IZAZVANA AMFETAMINOM ... 39
5.2. MOTORIČKA AKTIVNOST IZAZVANA APOMORFINOM ... 40
5.3. HIPERLOKOMOCIJA, STEREOTIPNO PONAŠANJE I ATAKSIJA IZAZVANI SA MK-801 ... 41
5.4. KOGNITIVNI POREMEĆAJ INDUCIRAN KETAMINOM (3,0 MG/KG I.P.) ... 43
5.5. NEGATIVNI SIMPTOMI SHIZOFRENIJE INDUCIRANI KETAMINOM ... 45
5.5.1. Ponašanje štakora u testu otvorenog polja (OFT) i testu sklonosti saharozi ... *45*
5.5.2. Socijalna interakcija (SIT) ... *49*
5.6. KATALEPSIJA INDUCIRANA S HALOPERIDOLOM I L-NAME ... 51
5.6.1. Katalepsija inducirana s haloperidolom ... *51*
5.6.2. Katalepsija inducirana sa L-NAME ... *52*
5.7. INTOLERANCIJA GLUKOZE INDUCIRANA OLANZAPINOM ... 53
5.7.1. Interakcija olanzapina i BPC 157 ... *53*
5.7.2. Intolerancija glukoze u GTT i BPC 157 ... *54*
5.7.3. Intolerancija glukoze nakon tretmana s olanzapinom i BPC 157 u GTT-u ... *56*
5.8. LOKOMOTORNA AKTIVNOST NAKON SENZIBILIZACIJE INDUCIRANE S METAMFETAMINOM ... 60
6. RASPRAVA ... 62
6.1. RASPRAVA O PRIMARNIM REZULTATIMA RADA ... 62
6.2. BPC 157 I SŽS ... 74
6.2.1. Uvod ... *74*
6.2.2. BPC 157 i lezije mozga ... *79*
6.2.3. BPC 157 i poremećaji u ponašanju ... *82*
6.2.4. BPC 157 i ozljeda kralježnične moždine ... *84*
7. ZAKLJUČCI ... 87
8. SAŽETAK ... 88
9. SUMMARY ... 90
10. LITERATURA ... 93
11. ŽIVOTOPIS ... 138

Popis oznaka i kratica

AC	adenil ciklaza
AMPK	proteinska kinaza aktivirana AMP-om
AKT	protein kinaza B (PKB)
AP5	(2R)-amino-5-fosfonovalerična kiselina
cAMP	ciklički adenozin monofosfat
BPC 157	*engl.* Body Protective Compound 157
BDNF	neurotrofički čimbenik porijeklom iz mozga
CAMKII	kinaza II, ovisna o kalciju/kalmodulinu
CDK5	ciklin ovisna kinaza 5
DA	dopamin
DAG	diacil glicerol
DARPP-32	dopaminom- i cAMP-regulirani fosfoprotein
DISC1	*engl.* Disrupted in schizophrenia 1
EPS	ekstrapiramidalni sindrom
Ex-4	Exendin 4, peptid
FSIs	*engl.* fast-spiking interneurons
GABA	γ-aminomaslačna kiselina
GLP-1R	receptor glukagonu sličnog peptida 1
cGMP	ciklički gvanozin monofosfat
GSIS	glukozom stimulirana sekrecija inzulina
GPCR	receptori vezani za G protein
GSK3	glikgen sintaza kinaza-3
GTN	gliceril trinitrat

GTT	test tolerancije glukoze
GWAS	studija povezanosti na razini genoma
5-HT	serotonin
KO	*engl.* knockout
LD1	letalna doza
LGP	*Lateral globus pallidus*
L-NAME	Nω-Nitro- *L* -arginin metil ester hidroklorid
L-NOARG	L-NG-nitro arginin
L-NPA	Nω-propil-L-arginin
LTCCs	L-tip Ca2+ kanala
MB	metilensko modrilo
MGP	*Medial globus pallidus*
MK-801	dizocilpin
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MSNs	*engl.* medium spiny neurons
7-NI	7-nitroindazol
NMDAR	N-metil-D- aspartat / receptor
NORT	Test prepoznavanja novog objekta
NOS	sintaza dušikovog II oksida (NO)
OFT	*engl.* Open field test
OLT	*engl.* Object location test
PCP	fenciklidin
PET	pozitronska emisijska tomografija
PFC	prefrontalna kora
PKA	protein kinaza A

PP2A	protein fosfataza 2
PP2B	Protein fosfataza-2B (calcineurin)
PPI	prepulsna inhibicija
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina
mTOR	*engl.* The mechanistic target of rapamycin
SIT	*engl. Social interaction test*
SN	substantia nigra, A9
SNc	*substantia nigra pars compacta*
SNr	*substantia nigra pars reticulata*
SNAP	S-nitrozo-N-acetilpenicilamin
SNP	natrijev nitroprusid
SNS	*engl.* Sympathetic nervous system
SPECT	*engl. Single-photon emission computed tomography*
STN	subtalamička jezgra
SŽS	središnji živčani sustav
VTA	Prednje tegmentalno područje, A10

1. UVOD

1.1. Dopaminski put u liječenju shizofrenije

Shizofrenija je teška mentalna bolest s heterogenom kombinacijom simptoma (1-3). Karakteriziraju je tri vrste simptoma: pozitivni (halucinacije, neorganizirani govor i ponašanje), negativni (narušena motivacija i socijalni deficit) i kognitivni (poremećaji u pamćenju) (2, 4, 5). Shizofrenija pogađa 1% svjetske populacije, učestalija je i ozbiljnija kod muškaraca nego kod žena, a početak se događa u kasnoj adolescenciji i neuobičajen je nakon 50. godine (2, 5-8). Iako neurobiologiju shizofrenije još treba razjasniti, predložene su mnoge hipoteze za pojašnjenje bolesti, uključujući hipotezu o neurorazvoju, glutamatnu hipotezu i najprihvaćeniju dopaminsku hipotezu (9-11).

Čvrsti dokazi ukazuju na promjenu dopaminergičke neurotransmisije, a abnormalnosti u glutamatergičkoj signalizaciji uključene su u genezu psihotičnih i kognitivnih simptoma (3, 4). Analizom slikovnih studija sinaptičkih funkcija *in vivo* pokazana je visoka razina gustoće dopaminskih D2 receptora u shizofrenih bolesnika u usporedbi sa zdravim kontrolnim ispitanicima, ali bez promjena u D1 dopaminskim receptorima (12-15). Modifikacija funkcija sklopova neurona može se regulirati dopaminergičkim interakcijama D1-D2 dopaminskih receptora, kao i drugim signalnim proteinima (16, 17). DARPP-32 (protein reguliran dopaminom i cAMP) jedan je od ciljeva fosforilacijske aktivnosti dopaminskih receptora, aktivira se i koeksprimira s D1 u MSN-ima (18-20). Štoviše, Fienberg i sur. (1998) su opisali da su miševi u modelu s mutiranim DARPP-32 pokazali značajne poremećaje u molekularnom i bihevioralnom odgovoru na dopamin, antipsihotike i droge, što ukazuje na važnost regulacije DARPP-32 u dopaminergičkoj funkciji (21). U modelu na glodavcima, akutna primjena amfetamina potaknula je porast lokomotorne aktivnosti i senzomotornog deficita (putem DA D2 receptora), povećavajući sinaptičke monoamine (22-24), a ove su značajke opisane u nekim neurološkim poremećajima poput shizofrenije (22,23). Štoviše, ovaj kronični hiperdopaminergički kontekst može povećati aktivnost DARPP-32 jer su povećane ukupne razine CDK5, p35 i p25, što rezultira visokom aktivnošću CDK5 kinaze i posljedično povećanom fosforilacijom DARPP-32 na Thr75 (25). Budući da je DARPP-32 defosforiliziran kalcineurinom (PP2B), a PP2B nokautirani miševi pokazali kognitivno oštećenje, ti rezultati sugeriraju korelaciju između DARPP-32 i shizofrenije (26, 27). U odnosu na glutamatnu hipotezu, primjena nekompetitivnog psihotogenog NMDAR antagonista ketamina u zdravih životinja uzrokovala je poremećaje dopamina slične simptomima shizofrenije pa Stephan i sur.

(2009) sugeriraju da disfunkcija dopamina vjerojatno utječe na plastičnost NMDA, što bi moglo biti povezano sa shizofrenijom (28-30).

Uzimajući u obzir složenost funkcije dopamina i njegovu povezanost s razvojem nekoliko bolesti, nije iznenađujuće da postoji niz lijekova kojima je cilj liječiti ove bolesti ciljanjem dopaminskih receptora izravno ili neizravno. Širok je popis selektivnih ili neselektivnih agonista i antagonista dopamina koji se klinički koriste za poboljšanje simptoma bolesti kao što su Parkinsonova bolest, erektilna disfunkcija, hiperprolaktinemija, shizofrenija, bipolarna depresija i mučnina. Neki primjeri su apomorfin, iloperidon, domperidon, bromoprid, klozapin, lurasidon, olanzapin (15). Većini ovih lijekova glavni cilj je D2 receptor, iako postoje spojevi koji mogu djelovati i na D1 i D3 (31). Nedavno je američka Uprava za hranu i lijekove odobrila novi lijek koji je djelomični agonist dopaminskih D2 receptora, koji također ima agonističku aktivnost na 5-HT1A receptorima i antagonist na 5-HT2A i α-adrenergičnim receptorima: brekspiprazol (32-34). Odobren je za liječenje shizofrenije i kao dodatak liječenju velikog depresivnog poremećaja. Brekspiprazol se također ispituje za liječenje agitacije povezane s Alzheimerovom demencijom i za posttraumatski stresni poremećaj (33). Još jedan zanimljiv atipični antipsihotički lijek koji je djelomični agonist D2 receptora je aripiprazol. Visoke koncentracije aripiprazola smanjuju otpuštanje dopaminergičnih neurona, dok niske koncentracije povećavaju otpuštanje, što sugerira da lijek djeluje i na cAMP / PKA i na Akt / GSK3 putove (35, 36). Aripiprazol je odobren kao terapija za shizofreniju, bipolarni poremećaj, veliki poremećaj depresije i, kod djece, za Tourettov poremećaj i razdražljivost povezanu s poremećajem autističnog spektra (36). Lijekovi koji ciljaju ortosterična mjesta receptora djeluju na istom mjestu kao i endogeni ligandi i izazivaju ograničeni uzorak terapijskih odgovora zbog različite učinkovitosti, specifičnosti i poluživota. Nadalje, oni su skloni dovesti do štetnih nuspojava. Nedavno je razvijen novi pristup razvoju lijekova koji djeluju na dopaminergičke putove u kojima lijekovi radije ciljaju signalne putove receptora nego receptore (37, 38). Jedno uzbudljivo područje moduliranja funkcije receptora je razvoj alosteričnih lijekova za GPCR, uključujući dopaminske receptore (39). Ti lijekovi mogu potencijalno smanjiti štetne nuspojave vezanjem na mjesta koja su topografski različita od onih na koja se endogeni ligand veže, a također mogu dvosmjerno utjecati na nizvodne putove. Predloženo je da bi uporaba alosteričnih modulatora mogla povećati selektivnost za GPCR podjedinice i poboljšati terapijske učinke bez narušavanja fiziološki regulirane matrice (40). Zanimljivo je da heterodimeri receptora dopamina također mogu biti regulirani alosteričkim modulatorima (41). U 2010. godini, N - ((trans) -4- (2- (7 cijano-3,4-dihidroizo-kinolin-2 (1H) -il) etil) cikloheksil) -1H-indol-2-karboksamid (SB269652) otkriven je kao prvi negativni alosterični modulator za D2 i D3

dopaminske receptore i može dovesti do razvoja nove klase antipsihotičkih lijekova (42). Sukladno tome, 3 (R) - [(2 (S) -pirolidinilkarbonil) amino] -2-okso-1-pirolidin acetamid (PAOPA) specifični je alosteričnimodulator D2 receptora za koga je dokazano da smanjuje ponašanje nalik shizofreniji u predkliničkim ispitivanjima koja su pokazala znatno manje štetnih nuspojava (43). U tom smislu, alosterični lijekovi za GPCR, iako ih je teško razviti, trenutno su jedan od najcjenjenijih farmaceutskih alata za razvijanje različitih strategija liječenja nekoliko patologija. Dva lijeka u ovoj kategoriji već su odobrena u marketinške svrhe (40). Druga klasa lijekova koja se fokusira na post-receptorsku signalizaciju dopaminskih receptora koji su u fazi razvoja jesu pristrani ligandi (poznati i kao funkcionalni selektivni ligandi) (44). Ti su spojevi dizajnirani da selektivno zahvaćaju jedan signalni put nizvodno od receptora koji modulira višestruke putove kao odgovor na svoj endogeni ligand (15, 45). Ligandi pristrani za D2 receptore su u fazi izrade kao potencijalna terapija shizofrenije i mogu selektivno aktivirati nizvodne efektore cAMP / PKA ili β-arestin-2 / Akt (46). Kariprazin je jedan od takvih lijekova koje je FDA već odobrila za kliničku uporabu (47). Kariprazin može biti koristan za liječenje shizofrenije i bipolarnog poremećaja tipa I jer ima i antagonistička i djelomična agonistička svojstva na D3 i D2 receptorima, uz određeni afinitet za 5-HT2B receptore (48). Farmakološki, kariprazin je klasificiran kao pristrani agonist dopaminskih receptora, jer njegovo djelovanje na D2 receptore blokira signalizaciju posredovanu G proteinima, bez regrutiranja signalizacije β-arestinin-2 (49). Drugi mogući ciljevi za otkrivanje dopaminergičkih signalnih lijekova u budućnosti mogu biti nekodirajuće RNA zbog njihove uloge u održavanju neuronske homeostaze i njihove disregulacije u neurološkim bolestima. Lijekovi koji bi mogli ponovno uspostaviti nekodirajuću funkciju RNA mogli bi obnoviti sinaptičku transmisiju (50). Uz to, razvijaju se terapije koje koriste dopaminske neurone izvedene iz matičnih stanica, posebno za liječenje Parkinsonove bolesti. Zajedno uzevši, postoji niz različitih terapija koje se istražuju za liječenje bolesnika s neurološkim bolestima u budućnosti (51, 52).

1.2. Uloga donora NO-a i inhibitora NOS u shizofreniji

1.2.1. Uloga donora NO u shizofreniji

Donori NO su heterogena skupina spojeva čija je zajednička značajka sposobnost oslobađanja NO-a ili vrsta povezanih s NO-om, npr. nitrozonijevog iona (NO+) ili nitroksil aniona (NO), *in vitro* ili *in vivo* neovisno o njegovim endogenim izvorima. Unatoč činjenici da se ovi spojevi smatraju donorima NO, oni imaju različite farmakokinetičke i dinamičke profile koji određuju

vrstu i opseg njihovih bioloških učinaka (53). Glavna odrednica tih učinaka je način na koji se oslobađa NO, količina proizvedenog NO i vrijeme tijekom kojeg se oslobađa. Štoviše, neki donori NO stvaraju alternativne produkte koji se mogu pojaviti tijekom njihovog metabolizma. U tom kontekstu, važno je naglasiti da ko-generiranje superoksidnog aniona može predstavljati ograničenje za terapeutski potencijal donora NO i njihovih metabolita koji se čak mogu koristiti kao generatori peroksinitrita (54). Donori NO djeluju na vaskularnoj razini povećanjem venske kapacitivnosti i koronarnom vazodilatacijom. Donori NO široko se koriste u kliničkom liječenju hipertenzije i kardiovaskularnih bolesti (55). Osim toga, pronađeno je da donori NO posjeduju jaka antioksidativna svojstva i moduliraju upalni odgovor. Stoga se ispituje njihova korisnost kao neuroprotektivnih sredstava u ishemijskom moždanom inzultu ili u pomoćnom liječenju neurodegenerativnih bolesti npr. Parkinsonove ili Alzheimerove bolesti (56).

U nizu pretkliničkih ispitivanja procijenjena je djelotvornost donora NO-a na psihotomimetičke učinke uzrokovane hipofunkcijom glutamatergičnog sustava u glodavaca. Intraperitonealna (i.p.) primjena natrijevog nitroprusida (SNP) donora NO (2–6 mg/kg) suzbila je hipermotilitet, stereotipiju i ekspresiju *c-fos* u kortikalnim područjima induciranu s antagonistom NMDA receptora fenciklidinom (PCP) (5 mg/kg, i.p.) u štakora (57). Naknadna studija pokazala je da drugi donor NO molzidomin (2-4 mg/kg, i.p.) suzbija hipermotilitet, stereotipiju i ataksiju induciranu s antagonistom NMDA receptora MK-801 (dizocilpin) (0,1 mg/kg, i.p.) u štakora (58). Nadalje, prethodni tretman sa SNP (4 mg/kg, i.p.) spriječio je psihotomimetičke učinke (hipermotilnost i stereotipiju) antagonista NMDA receptora ketamina (25 mg/kg, i.p.) (59). Konačno, nakon tretmana sa SNP (5 mg/kg, i.p.), ali ne s gliceriltrinitratom (GTN) (10 mg/kg, i.p.), oslabljena je hiperlokomocija inducirana ketaminom (30 mg/kg, i.p.) (60). Skupno, gore navedeni rezultati sugeriraju da donori NO poništavaju psihotomimetičke učinke nastale hipofunkcijom glutamatergičkog sustava koji mogu nalikovati pozitivnim simptomima shizofrenije. Do sada, međutim, nema informacija jesu li se donori NO u stanju suprotstaviti psihotomimetičkim učincima (hipermotilnost, stereotipija) koji oponašaju pozitivne simptome shizofrenije izazvane dopaminergičkim agensima (npr. amfetamin, apomorfin).

Različite studije su procijenile učinkovitost donora NO u modelima na životinjama koji podsjećaju na kognitivne deficite povezane sa shizofrenijom. Specifično, pokazano je da je centralna primjena NO-donora S-nitrozo-N-acetilpenicilamina (SNAP) (10 nmol) oslabila prostorni deficit pamćenja induciran s MK-801 (0,1 mg/kg, i.p.) u Y-labirintu u miševa (61). Osim toga, periferno primijenjeni molzidomin (4 mg/kg, i.p.) neutralizirao je poremećaj prepoznavanja induciran s MK-801 (0,1 mg/kg, i.p.) nakon treninga u zadatku prepoznavanja

novog objekta (NORT) u štakora (58). Nadalje, GT 1061 (0,001 – 0,1 mg/kg, i.p.) novi nitrat koji kombinira agonističku aktivnost na GABA A receptorima i pojačava otpuštanje NO, poništio je MK-801 (0,5 mg/kg, dva puta dnevno tijekom 7 dana, i.p.) inducirano preusmjeravanje deficita učenja u zadatku Morrisovog vodenog labirinta u štakora (63). Štoviše, SNP (5 mg/kg, i.p.) i GTN (10 mg/kg, i.p.) oslabili su ketaminom (30 mg/kg, i.p.) - izazvan dugotrajni, ali ne i kratkotrajni poremećaj u prepoznavanju u NORT u štakora (60). Zatim, otkriveno je da donori NO mogu poništiti kognitivni deficit induciran dopaminergičkim agensima u glodavaca. Injekcija molzidomina (2–4 mg/kg, i.p.) i SNP (0,3-1 mg/kg, i.p.) nakon tretmana poništila je poremećaj prepoznavanja koji je izazvao mješoviti dopaminergički agonist D1/D2 apomorfin (1 mg/kg, i.p.) u NORT u štakora (63). Dodatno, tretman SNP-om (2,5 mg/kg, i.p.) poboljšao je ponašanje miševa i oslabio amfetaminom (10 mg/kg, i.p.) - inducirani nedostatak pozornosti u testu prepulsne inhibicije (PPI) (64). U drugoj studiji, tretman SNP-om (0,3–3 mg/kg, i.p.) nije imao učinka na sposobnost procjene štakora u PPI testu (65). Ukratko, naprijed navedeni rezultati ukazuju da su donori NO sposobni suprotstaviti se poremećajima pažnje i pamćenja u različitim modelima shizofrenije na životinjama i predlažu funkcionalnu interakciju između NO i glutamatergičkog odnosno dopaminergičkog sustava. U nedavnom ispitivanju pokazalo se da je SNP remetio kognitivnu sposobnost glodavaca (60), dok druga izvješća nisu podržala ovu tvrdnju (63-65). Ova neslaganja u vezi s učincima SNP mogu se pripisati razlikama u rasponu doza, farmakokinetičkim pitanjima i eksperimentalnim postavkama, uključujući sedativno djelovanje ovog donora NO kada se primjenjuje u dozi od 5 mg/kg.

Zanimljivo je da nema informacija o potencijalnoj učinkovitosti NO donora u modelima na životinjama koji sliče negativnim simptomima shizofrenije. Nedavna studija s ciljem rješavanja ovog problema nije donijela značajne rezultate. Specifično, objavljeno je da SNP (5 mg/kg, i.p.) nije utjecao na učinkovitost štakora tretiranih ketaminom u testu potrošnje saharoze (60).

Prvo, kontrolirano ispitivanje provedeno je u 20 shizofrenih bolesnika u dobi od 19 do 40 godina, koji su bili u prvih 5 godina bolesti i uzimali antipsihotike. Bolesnici su primali SNP [0,5 μg/min 4 h, intravenski, (i.v.)] ili placebo. Rezultati ovog preliminarnog istraživanja jasno su pokazali da je nakon infuzije SNP-a opaženo brzo (unutar 4 h) poboljšanje simptoma i ti korisni učinci SNP-a su se zadržali 4 tjedna nakon infuzije (66). Zanimljivo, pri testiranoj dozi, SNP nije izazvao štetne nuspojave (66). Nadalje, u kasnijem kliničkom ispitivanju, ocijenjena je učinkovitost SNP-a u liječenju kognitivnih oštećenja, što je uobičajena značajka u shizofrenih bolesnika (67). Nalazi su pružili preliminarne dokaze o mogućem blagotvornom učinku SNP-a

na izvršne funkcije (selektivna pažnja i radna memorija) koje su često oštećene u shizofrenih bolesnika (67).

Točan mehanizam (mehanizmi) kojima donori NO proizvode svoje učinke na deficite ponašanja izazvane antagonistima NMDA receptora još uvijek se istražuje. U tom kontekstu, objavljeno je da SNP blokira ekspresiju *c-fos* izazvanu s PCP-om u kortikalnim regijama mozga štakora, što se smatra metaboličkim biljegom aktivacije neurona (57). Objašnjenje njihovog djelovanja moglo bi se povezati s kapacitetom donora NO za promicanje povratne inhibicije NOS-a (66), ispravljajući regulaciju neurona koji eksprimiraju NOS u hipokampusu štakora nakon primjene antagonista NMDA receptora (68). Doista, pokazalo se da oni inhibiraju povećanje aktivnosti NOS inducirane u neutrofilima štakora tretiranim s endotoksinom lipopolisaharidom (69). Alternativna hipoteza kojom se objašnjava korisno djelovanje donora NO u ovim modelima shizofrenije na životinjama temelji se na dobro poznatim antioksidativnim svojstvima ovih spojeva u različitim eksperimentalnim modelima Parkinsonove bolesti, ishemije mozga, traumatskih ozljeda mozga i Alzheimerove bolesti (56). Iako je patogeneza shizofrenije i dalje nepoznata, predložena je moguća veza između oksidativnog stresa i bolesti. U tom kontekstu, objavljeno je da subanestetička doza ketamina povećava oksidativni stres u mozgu štakora (70). U cjelini, ovi podaci ukazuju da korisni učinci donora NO na poremećaje ponašanja uzrokovani glutamatnom hipofunkcijom mogu biti povezani s antioksidativnim svojstvima NO donora. Zanimljivo je da spojevi kao što je nitrat GT 1061 koji kombiniraju pojačavanje funkcije GABA A receptora s pojačavanjem funkcije NO i time što rješavaju višestruke čimbenike koji su uključeni u patofiziologiju shizofrenije, mogu imati veću učinkovitost nakon sustavnih inzulta koji više odgovaraju onima u shizofreniji (62). Mehanizam kojim donori NO ispoljavaju svoje učinke na oštećenje pamćenja izazvano apomorfinom još nije razjašnjen. Međutim, dopamin snažno modulira aktivnost NOS ovisnu o NMDA i produkciju NO u strijatalnim neuronima (71). Aktivnost NOS-a povećana je aktivacijom dopaminskih D1 receptora preko izravnog učinka na nNOS neurone u strijatumu i smanjenom aktivacijom dopaminskih D2 receptora putom još nepoznatog inhibitornog mehanizma (72). Zanimljivo, objavljeno je da su male doze apomorfina pojačale prepoznavanje u štakora putem aktivacije dopaminskih D1 receptora (73), dok njegov učinak koji remeti pamćenje može uključivati aktiviranje dopaminskih D2 receptora (74). Pokazano je da aktivacija dopaminskih D2 receptora blokira olakšavanje aktivnosti NOS posredovano dopaminskim D1 receptorima (75) najvjerojatnije posrednim mehanizmom koji uključuje aktivaciju presinaptičkih D2-receptora (76, 77) i posljedičnom inhibicijom NMDA glutamatom- induciranih učinaka na aktivnost NOS. Međutim, efekti posredovani

dopaminskim D2 receptorima mogu također modulirati aktivnost NOS djelovanjem na druge mehanizme npr. GABA (78). Moglo bi se pretpostaviti da pojačanje aktivnosti NO može biti suprotno inhibicijskim učincima aktivacije dopaminskih D2 receptora na dopaminsko D1-olakšavanje aktivnosti NOS. Što se tiče učinka koji SNP proizvodi na modulaciju senzorno-motorne filtracije tijekom dopaminergičke disfunkcije, može se zaključiti da ti učinci nisu povezani s povećanjem razine cGMP. U tom kontekstu, ne može se isključiti uloga cAMP-a u djelovanje na pažnju koju posreduju NO donori (64).

Akumulirani dokazi ukazuju na to da su donori NO uključeni u shizofreniju. Pretklinički pokusi pokazali su njihovu učinkovitost u ublažavanju psihotomimetičkih učinaka i kognitivnih poremećaja u modelima shizofrenije na životinjama. Do sada, međutim, postoje nedosljedne informacije o potencijalnoj učinkovitosti generatora NO u modelima na životinjama koji podsjećaju na negativne simptome shizofrenije. Klinička istraživanja se sastoje od dvije pilot studije u kojima je uočeno poboljšanje u shizofrenih bolesnika nakon liječenja SNP-om. Nadalje, treba istražiti potencijalnu ulogu donora NO kao pomoćnih sredstava u liječenju nekih aspekata shizofrenije. Konačno, važno je uzeti u obzir uski terapeutski prozor spojeva povezanih s NO. Male promjene u lokalnoj koncentraciji NO i vrijeme primjene stoga mogu biti ključni čimbenik u određivanju njihovog biološkog djelovanja (79).

1.2.2. Uloga inhibitora sinteze dušikovog oksida (NOS) u shizofreniji

Inhibitori NOS koji blokiraju biološku aktivnost NO, značajno se razlikuju ovisno o potentnosti i selektivnosti izooblika. Gvanidino-supstituirani analozi L-arginina (npr. L-NMMA (monometilarginin), L-N-nitroarginin i njegov metil ester, L-NOARG i L-NAME) snažno inhibiraju NOS *in vitro* i *in vivo*, ali ova klasa spojeva pokazuje malu selektivnost prema različitim izooblicima NOS (79-82). Derivati amino kiselina također mogu blokirati NOS. Dva prilično jaka inhibitora NOS su L-N-iminoetil-lornitin (L-NIO) i L-N6-iminoetillizin (L-NIL). Prvi ima određeni afinitet za eNOS, dok je drugi relativno selektivan za iNOS. Drugi inhibitori NOS su supstituirani citrulinski spojevi, npr. tiocitrulin i alkiltiocitrulini (npr. S-metil i S-etiltiocitrulin, SMTC i SETC). SMTC pokazuje izvjesnu selektivnost za nNOS (80-82). Selektivnu inhibiciju aktivnosti nNOS i iNOS pokazuju i pojedini heterociklički spojevi različite kemijske prirode. Postoji nitroindazolna skupina fuzioniranih heterocikla [npr. 7-NI (7-nitroindazol), L-NPA (Nω-propil-L-arginin), 3-bromo-7-nitroindazol i 2,7-dinitroindazol] i imidazol i njegovi supstituirani derivati [npr. TRIM (l- (2-trifluorometilfenil) imidazol)] koji su svi jaki inhibitori nNOS. Aminoguanidin, 1400 W (3-aminometilbenzilacetamidin) i neke S-alkilirane izotioureje selektivno inhibiraju iNOS (80-82). Neselektivni i eNOS inhibitori

blokiraju eNOS, smanjujući endotelnu vazodilataciju i povisujući krvni tlak (83-85). Inhibitori nNOS imaju antinociceptivno djelovanje (83), a inhibitori iNOS povećavaju krvni tlak u septičkom šoku (84). Inhibitori NOS također mogu smanjiti veličinu infarkta u modelima fokalne ishemije na životinjama (86-88) i imati neuroprotektivnu aktivnost u modelima Parkinsonove bolesti (89-91) i Alzheimerove bolesti na životinjama (92).

U miševa, i.p. injicirani neselektivni inhibitor NOS, metilensko modrilo (MB) (32-100 mg/kg), poništio je eksplozivne epizodične skokove inducirane s antagonistom NMDA receptora MK-801 (1 mg/kg, i.p.) (93). Također u miševa, neselektivni inhibitor NOS L-NAME (30 mg/kg, i.p.) je oslabila stereotipno ponašanje izazvano subkutanom (s.c.) injekcijom indirektnog agonista dopamina metamfetamina (4 mg/kg) (94). U štakora L-NAME (5-10 mg/kg, i.p.) je suzbila hipermotilitet i nedostatke pažnje izazvan antagonistom NMDA receptora PCP (2-4 mg/kg, s.c.), ali ne i promjene izazvane amfetaminom (1-2 mg/kg, s.c.) (95). Isto tako, u predtretmanu štakora s neselektivnim inhibitorima NOS-a L-NOARG (30 mg/kg, i.p.) i arcaina (10 i 30 mg/kg, i.p.) smanjeni su nedostaci pažnje izazvani PCP-om (3 mg/kg, s.c.) (96). U miševa L-NAME (20-40 mg/kg, i.p.) je poništila štetne učinke PCP-a (5 mg/kg, i.p.) na pažnju (97). Slično tome, MB (50 i 100 mg/kg, i.p.) je spriječio poremećaj prepulsne inhibicije i hipermotilitet induciran s PCP (4 mg/kg, i.p.) u miševa (98). L-NAME (20 mg/kg, i.p.) u miševa oslabila je oštećenje pažnje uzrokovano MK-801 (0,4 mg/kg, i.p.), ali ne i poremećaj pažnje izazvan s PCP-om (4 mg/kg, i.p.) i amfetaminom (5 mg/kg) kg, i.p.). Zanimljivo, L-NAME 40 mg/kg je poništila nedostatak pažnje izazvan gore spomenutim glutamatergičkim ili dopaminergičkim agensima (99). Isti su istraživači izvijestili da je L-NAME (10 mg/kg, i.p.) smanjila nedostatak pažnje izazvane PCP-om (2 mg/kg, i.p.), ali ne i MK-801 (0,1 mg/kg, i.p.) u štakora. L-NAME (10 i 40 mg/kg, i.p.) je suzbila hipermotilitet induciran PCP-om (4 mg/kg, ip) i MK-801 (0,15 mg/kg, i.p.) u testu otvorenog polja u štakora (100). Čini se da se ovaj diferencijalni učinak L-NAME na nedostatak pažnje zbog blokade glutamata ne objašnjavaju selektivnom interakcijom L-NAME s antagonističkim učinkom PCP-a na NMDA receptorima. Veća učinkovitost L-NAME u ublažavanju učinaka PCP-a u ponašanju od učinaka na MK-801 može odražavati njihovu razliku u potenciji (93). MK-801 ima oko 20 puta veći afinitet za NMDA receptore nego PCP (101). Opisana je funkcionalna interakcija između nitrergičkog i DAergičkog sustava u održavanju pozornosti. Dvije doze L-NOARG (40 mg/kg, i.p.) u jednom danu suzbile su nedostatak pažnje izazvan amfetaminom (2 mg/kg, i.p.) u testu prepulsne inhibicije u štakora. L-NAME nije suzbila poremećaj pažnje uzrokovan agonistom DA D1/D2 receptora apomorfinom (0,5 mg/kg, i.p.), klonpirolom agonistom DA D2/D3 receptora (0,3 i 1 mg/kg, i.p.) ili bromokriptinom agonistom DA D2 receptora (1 i 40 mg/kg, i.p.) (91). Ovi nalazi

ukazuju da L-NOARG stupa u interakciju s amfetaminom (koji oslobađa DA), ali ne s DA agonistima. Prema tome, čini se da je NO uključen u dopaminergičko djelovanje na senzorno-motornu filtraciju, vjerojatno presinaptičkim mehanizmom (102). Izvođenje zadatka u Morrisovom vodenom labirintu upotrijebljeno je za proučavanje učinaka L-NAME (10 mg/kg, s.c.) u suprotstavljanju štetnom djelovanju PCP (2 mg/kg, s.c.) na prostornu memoriju štakora i kognitivnu fleksibilnost. Subkronični tretman s L-NAME suzbio je nedostatke u prostornom učenju, prostornoj radnoj memoriji i kognitivnoj fleksibilnosti uzrokovanoj subkroničnom administracijom PCP-a (103-106).

U modelu na životinjama koji oponaša negativne simptome shizofrenije (test socijalne interakcije) L-NAME (10 mg/kg, i.p.) je suzbila socijalnu izolaciju induciranu PCP-om (2 mg/kg, s.c.) (106). L-NOARG (40 mg/kg, i.p.) je suzbio štetne učinke otpuštanja dopaminametilfenidatom (30 mg/kg, i.p.) na pažnju u miševa (107). U miševa, s dozama L-NAME ispod praga (20 mg/kg, i.p.) istodobno s agonistom GABA B baklofenom (2,5 mg/kg, i.p.) sprječeni su poremećaji učinka PCP (5 mg/kg, i.p.) na pozornost. Baklofen, povezano s dozom je uzrokovao smanjenje oslobađanja NO iz PFC. Ovi nalazi predlažu funkcionalnu interakciju između GABA B receptora i NO na pozornost (108).

U štakora su dvije bilateralne injekcije L-NOARG-a (11 μg) u bazolateralnu amigdalu (BLA) u jednom danu spriječile nedostatak pažnje izazvane apomorfinom (10 μg) i kvinpirolom (3 μg), ali ne i amfetaminom (30 μg). Prema tome, pretpostavlja se da NO djeluje na dopaminergičku regulaciju senzorno-motorne filtracije u BLA (109). Pojedinačna injekcija L-NAME (1 i 3, ali ne i 10 mg/kg, i.p.) poništila je poremećaje prepoznavanja uzrokovane antagonistima NMDA receptora MK-801 (0,1 mg/kg, i.p.) i ketamina (3 mg/kg, i.p.) u NORT u štakora (110). Ponovljene doze L-NAME (1 i 10 mg/kg, i.p., jednom dnevno tijekom pet uzastopnih dana) oslabile su deficit prostorne radne memorije i retencijski deficit uzrokovan ketaminom (15 mg/kg, i.p. jednom dnevno tijekom pet uzastopnih dana) u zadatku radijalnog vodenog labirinta u štakora (111). U istom rasponu doza i uvjetima liječenja, L-NAME je suzbila gubitak prepoznavanja kontrolnih štakora u NORT-u (111). Nasuprot tome, ponovljene sistemske doze L-NAME (3 mg/kg, i.p., jednom dnevno tijekom pet uzastopnih dana) poremetile su učinak štakora u NORT (59), te u zadatku radijalnog vodenog labirinta (111). Tako L-NAME ima dvostruko djelovanje na pamćenje štakora, što može biti povezano sa stanjem liječenja (akutnim naspram ponavljanim), a ne s tipom memorije (prepoznavanje nasuprot prostornoj) i sugerira složeni učinak L-NAME na procese memorije (111). Konačno, akutna L-NAME (1-3 mg/kg, i.p.) poništila je deficit induciran dopaminskim agonistom

apomorfinom (1 mg/kg, i.p.) u NORT u štakora, što potvrđuje interakciju između dopaminergičkog i nitrergičkog sustava u prepoznavanju (63).

Selektivni nNOS inhibitor 7-NI (100 mg/kg, i.p.) oslabio je eksplozivne epizodične skokove izazvane s MK-801 (1 mg/kg, i.p.) u miševa (93). Pri znatno nižim dozama (10 mg/kg, i.p.) 7-NI se također suprotstavio nedostacima pažnje u štakora induciranih s PCP (3 mg/kg, s.c.) (95). Selektivni nNOS inhibitor AR-R17477 (0,5, 1 i 5 mg/kg, s.c.) suprotstavio se hipermotilitetu izazvanom PCP-om (4 mg/kg, s.c.), a doza od 1 mg/kg neutralizirala je nedostatke pažnje izazvane s PCP (2 mg/kg, s.c.) ali ne i amfetaminom (2 mg/kg, s.c.) u štakora (112). Selektivni nNOSinhibitor L-NPA (20 mg/kg, i.p.) oslabio je hiperlokomociju i oštećenje pažnje u miševa inducirano s PCP (3 mg/kg, i.p.) (113). Rezultati ukazuju da su učinci L-NPA na pozornost bili selektivni za područje mozga, budući da on smanjuje visoku razinu NO izazvanu PCP-om u prefrontalnoj kori (PFC) vjerojatno uključujući nNOS (114). Selektivni nNOS inhibitori također su učinkoviti u modelima shizofrenije na životinjama povezanih s dopaminergičkom disfunkcijom. 7-NI injiciran periferno (10 i 30 mg/kg, i.p.) ili intracerebroventrikularno (icv, 50, 100 nM) suzbio je poremećaj pažnje u miševa induciran metilfenidatom (30 mg/kg, i.p.) (107). Pri nižim dozama (0,3 i 1 mg/kg, i.p.) 7-NI je oslabio nedostke u prepoznavanju uzrokovane apomorfinom (1 mg/kg, i.p.) u štakora, ukazujući na funkcionalnu interakciju između DAergičkog i nitrergičkog sustava u prepoznavanju (63). Myricitrin (5 i 10 mg/kg, i.p.), iNOS blokator i inhibitor protein kinaze C, suprotstavio se stereotipiji i uspinjanju induciranom apomorfinom (1 mg/kg, s.c.) u miševa (115). Selektivni iNOS inhibitori aminoguanidin (AG) (100 i 400 mg/kg, ip) i (-) - epigalokatehin-3-galat) (EGCG, 100 mg/kg, i.p.) ukinuli su psihotomimetičke učinke (hipermotilitet, stereotipiju i ataksiju) inducirane s MK- 801 (0,25 mg/kg, i.p.) i oslabili hiperlokomociju induciranu s PCP (20 mg/kg, i.p.) u štakora. Oba iNOS inhibitora obnovila su fiziološku razinu istjecanja glutamata iz prefrontalne kore (PFC) (116) evociranog s MK-801. Nedavno je utvrđeno da aminoguanidin (25 i 50 mg/kg, i.p.) suzbija poremećaj prepoznavanja izazvan ketaminom (3 mg/kg, i.p.) i apomorfinom (1 mg/kg, i.p.), ali ne smanjuje, pri bilo kojoj testiranoj dozi (50 i 100 mg/kg), socijalnu izolaciju induciranu ketaminom (8 mg/kg) u štakora (117). Čini se da inhibitori NOS smanjuju psihotomimetičke učinke i oštećenja povezana s kognitivnim funkcijama u različitim modelima shizofrenije na životinjama. Također postoje očigledne funkcionalne interakcije između NO i glutamatergičkog i DAergičkog sustava. Međutim, informacije su oskudne o potencijalnoj učinkovitosti inhibitora NOS u modelima dizajniranim za oponašanje negativnih simptoma shizofrenije. Dosadašnja studija pokazala je da je neselektivni inhibitor NOS L-NAME koristan

u suzbijanju socijalne izolacije izazvane tretmanom s PCP-om u štakora (106), dok inducibilni NOS inhibitor aminoguanidin nije ponovio ovaj učinak (117).

Klinička djelotvornost inhibitora NOS u shizofreniji ispitivala se tek u dva mala klinička ispitivanja do sada i njihovi rezultati nisu bili obećavajući. U četiri tjedna otvorene studije provedene u osam shizofrenih bolesnika koji više nisu odgovarali na konvencionalne antipsihotike, dodavanje MB konvencionalnim lijekovima nije dovelo do značajnog poboljšanja (118). Slično tome, u randomiziranom, dvostruko slijepom, placebo-kontroliranom pokusu s 34 sudionika EGCG nije imao značajan učinak (119). Zanimljivo je da je u nizu kliničkih ispitivanja uočena učinkovitost indirektnih inhibitora NOS-a u ublažavanju simptoma shizofrenije (120). Administracija L-lizina, aminokiseline uključene u stvaranje NO, u bolesnika koji su primali konvencionalne lijekove smanjila je težinu psihotičnih simptoma (121, 122). Nadalje, u nizu kliničkih ispitivanja utvrđeno je da je polusintetski antibiotik minociklin koji inhibira iNOS učinkovit u poboljšanju simptoma shizofrenije (posebno onih negativnih) (123). Oba spoja su bolesnici dobro tolerirali (121-123).

Iako su neki pretklinički modeli shizofrenije ukazali na učinkovitost određenih inhibitora NOS, eksperimentalni dokazi pokazuju da oni često uzrokuju katalepsiju (124, 125). To bi bilo ograničenje u njihovoj uporabi u liječenju shizofrenije. Međutim, kataleptički učinak inhibitora NOS gubi se ponovljenim tretmanom (126). Nadalje, pretpostavljeni amnestički učinci inhibitora NOS u životinja opaženi su s vrlo visokim dozama i često su bili praćeni teškim nespecifičnim učincima (127).

Precizan mehanizam učinka inhibitora NOS na poremećaje u ponašanju izazvane antagonistima NMDA receptora i dalje nije poznat u cijelosti. Međutim, shizofreniji-slični učinci antagonista NMDA receptora uključuju povećanje razine glutamata, hipermotilitet, stereotipiju, socijalni i kognitivni deficit (128). Shizofreniji-slični učinci na ponašanje kao posljedica blokade NMDA receptora u glodavaca barem dijelom posljedica su porasta NO aktivnosti (129). NO-ovisno povećanje signalizacije cGMP-a, glavnog efektora NO u mozgu, pokazano je u PFC-i miša, nakon administracije PCP-a. L-NAME je također oslabila nedostatke pozornosti uzrokovane PCP-om, smanjenjem tvorbe cGMP-a induciranog s PCP u PFC-i miša (130). Također je objavljeno da neselektivni inhibitor NOS L-NAME i inhibitori iNOS aminogvanidin (AG) i epigalokatehin-galat (EGCG) smanjuju prekomjerno istjecanje glutamata iz PFC u odgovoru na MK-801 i PCP (116,131). To bi mogla biti bitna komponenta korisnog djelovanja inhibitora NOS na poremećaje u ponašanju uzrokovane NMDA blokadom. Što se tiče mehanizma kojim inhibitori NOS izražavaju svoje učinke na DAergičku disfunkciju, objavljeno je da apomorfin povećava sadržaj cGMP u mozgu (132) i slično onome što se događa s PCP (130), inhibiranje

aktivnosti NOS moglo bi smanjiti cGMP i ukinuti deficit uzrokovan DAergičkom disfunkcijom (107). Nadalje, 7-NI blokira metilfenidatom induciranu ekspresiju *c-fos* u cingularnom korteksu miša, strijatumu, nucleus accumbensu i bazolateralnim amigdalama, što se smatra metaboličkim markerima neuronske aktivacije (133). Neurokemijske studije upućuju na to da inhibitori NOS slabe amfetaminom inducirano oslobađanje aspartata, GABA, acetilkolina u nucleus accumbens-u štakora. Inhibitori NOS normalizirali su i ekscesivne razine NO u kori i strijatumu uzrokovane amfetaminom (134). U svjetlu dokaza da je NO uključen u upalu (135), alternativno objašnjenje učinaka inhibitora NOS u pretkliničkim modelima shizofrenije može se temeljiti na njihovim utvrđenim antioksidativnim svojstvima. Ona su opisana u različitim predkliničkim modelima ishemije mozga (85-87); Parkinsonove bolesti (89-91) i Alzheimerove bolesti (92). Iako patogeneza shizofrenije ostaje nepoznata, predložena je veza s oksidativnim stresom. Antagonisti NMDA receptora navodno povećavaju oksidativni stres u glodavaca (69, 89, 90). Slično tome, postoje eksperimentalni dokazi da DA agonisti također induciraju oksidativni stres (136). Također su prijavljena antioksidativna svojstva inhibitora NOS u disfunkciji DAergičkog sustava. Posebno, je aminogvanidin inhibirao porast iNOS aktivnosti i spriječio gubitak DAergičkih stanica i neurodegeneraciju u upalnom stanju induciranom lipopolisaharidom (LPS) (137-139). Neselektivni inhibitor NOS L-NAME spriječio je oksidativni stres izazvan metamfetaminom (140). Činjenica da se inhibitori NOS mogu suprotstaviti psihotomimetičkim učincima glutamata i DAergičkoj disfunkciji može biti povezana s njihovim antioksidativnim profilom.

1.3. BPC 157 želučani pentadekapeptid

1.3.1. Pentadekapeptid BPC 157 i učinak na središnji živčani sustav

Stabilni želučani pentadekapeptid BPC 157 je protuulkusni peptid i predstavlja dio sekvence ljudskog želučanog proteina BPC izoliranog iz želuca. Slobodno je topljiv u vodi pri neutralnom pH i u fiziološkoj otopini. Administrira se samostalno jer je stabilan u želučanom soku čovjeka te mu pri administraciji nisu potrebni nosači za siguran prolazak kroz želudac. Dokazana je sigurnost primjene u kliničkim ispitivanjima za upalnu bolest crijeva (PL-10, PLD-116, PL 14736) i cijeljenje rana. U navedenim kliničkim ispitivanjima nije dokazana vlastita toksičnost pentadekapeptida BPC 157 te nije dostignut LD1. BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, M.W. 1419), sintetiziran je u kompaniji Diagen iz Ljubljane (Slovenija), te je do sada u istraživanjima najčešće korišten u različitom rasponu doza (10 μg/kg, 10 ng/kg, 10 pg/kg) i u različitim načinima primjene. BPC 157 sa svojim snažnim protuulkusnim potencijalom protiv različitih

ulcerogena predstavlja novi medijator Robertovog koncepta citoprotekcije. činak BPC 157 na središnji živčani sustav (SŽS) je zasnovan na pretpostavci da je BPC 157 bitan dio moždano probavne osovine te kao takav, osim djelovanja na gastrointestinalni trakt ima i koristan učinak na mozak. Budući da osovina mozak-probava podrazumijeva interakciju između mozga i probave i obrnuto (141), ovaj koncept također podrazumijeva neurotransmitere i/ili peptidergičke čimbenike rasta, nativne u gastrointestinalnom traktu koji imaju snažnu anti-ulkusnu potenciju, a time i s periferije također mogu povoljno utjecati na poremećaje SŽS-a. U svrhu liječenja to predstavlja sklad koji se mora uspostaviti između mozga i probave. Ovaj koncept podržava istraživanje koje dokazuje da osovina mozak-probava, kao dvosmjerni neurohumoralni komunikacijski sustav u ljudskom tijelu, također funkcionira kao put kojim crijevni mikrobioti moduliraju funkciju mozga domaćina (142). U teoriji, slijedeći implikacije Pavlova, Selyea i njihovih učenika, kako različiti peptidi mogu pokazati snažan učinak na periferne funkcije (osobito anti-ulkusnu potenciju) (143-151), osovina mozak-probava kontrolira brzinu kojom tijelo koristi svoje obrambene sposobnosti, daje odgovore i kontrolira osjetljivost tijela na aktivaciju drugih osi. U praksi, realizacija terapije, kao obrambeni odgovor s periferije (tj. gastrointestinalnog trakta) (tj. peptidergički agens koji je sposoban prenijeti svoju veliku korisnu potenciju s periferije (osobito s jakim anti-ulkusnim efektom) na središnje poremećaje) dosad je nedostajala. Pod perifernim paralelnim dijelom osi mozak-probava sugerira se Robertov koncept citoprotekcije želuca koji podrazumijeva održavanje sluznice gastrointestinalnog trakta kao uvjerljivog aktivnog temelja za druge korisne učinke (152-160). Tako je otkriven stabilni želučani pentadekapeptid BPC 157, endogeni anti-ulkusni peptid, nativan i stabilan u ljudskom želučanom soku, za koga se smatra da je novi medijator Robertove citoprotekcije, održavajući integritet gastrointestinalne sluznice, bez ikakve toksičnosti za koga se još navodi da nije postigao potpunu kliničku primjenu (161-173). Prema tome, za realizaciju osi mozak-probava, ali i stabilnog pentadekapeptida BPC 157, njegovi snažni korisni učinci na periferiji podrazumijevaju odgovarajući povoljan središnji utjecaj (161-173). Treba naglasiti da BPC 157 izbjegava sve praktične zamke u liječenju pomoću peptidergičkih čimbenika rasta (npr. standardni čimbenici rasta koji se brzo otope u ljudskom želučanom soku teško bi kombinirali periferno i centralno iscjeljivanje zbog nedostatka da se daju s nosačem i zahtijevaju specijalne sustave isporuke). BPC 157 se uvijek daje sam, i time može djelovati izravno, uvijek koristeći isti raspon doziranja, a time i prikladnu terapiju i fiziološku vezu između periferije i središnjeg živčanog sustava u smislu praktičnog razlučivanja koncepta osi mozak-probava.

Konceptualno, korisna osnova na periferiji podrazumijeva odgovarajući blagotvorni središnji utjecaj (158-174). Intrigantna točka bio je dokaz o antikataleptogenom učinku (172) nakon što je pokazano da BPC 157 blokira stereotipiju akutno induciranu amfetaminom i razvoj haloperidolom izazvane preosjetljivosti na amfetamin (173). Ipak, BPC 157, koji sam po sebi nema učinka na ponašanje (osobito kataleptogeni učinak) koji bi objasnio suprotstavljanje učincima amfetamina (173), izaziva slabljenje neposrednih učinaka neuroleptika, osobito katalepsije, vjerojatno na nekompetitivni način (172). Pokazano je da BPC 157 blokira katalepsiju izazvanu haloperidolom i flufenazinom, kao i somatosenzornu dezorijentaciju nakon sulpirida i klozapina (172). To sugerira generalizaciju da se BPC 157 može suprotstaviti nuspojavama različitih skupina neuroleptika, tipičnih i atipičnih. Osim toga, ovaj blagotvorni učinak na katalepsiju kombiniran je s antagonizacijom želučanih lezija nakon haloperidola (171, 172). Ovi nalazi ukazuju da pentadekapeptid BPC 157 u potpunosti stupa u interakciju s dopaminergičkim sustavom, centralno i periferno, ili barem ometa neke korake uključene u katalepsiju i/ili tvorbu ulkusa (171, 172). Daljnji dokaz interakcije BPC 157 s dopaminskim sustavom vidljiv je u sprječavanju razvitka katalepsije pri administraciji rezerpina, ali i kod mogućnosti slabljenja tremora, akatizije i katalepsije uzrokovane eksperimentalnom supstancom MPTP (161). Osim toga, primijećeno je da su oštećenja želuca koja se javljaju nakon primjene MPTP znatno oslabljena (161). Na totalnu blokadu dopaminskog sustava, istodobnom administracijom haloperidola i rezerpina, BPC 157 je isto tako imao koristan učinak (174) poništavajući posljedice dopaminom izazvane ozljede nigrostrijatalnih neurona, blokade dopaminskih receptora kao i posljedice smanjene dopaminske aktivnosti (161, 167, 173). Svi gore navedeni rezultati ukazuju na posebnu interakciju BPC 157 i dopaminskog sustava, ali i da BPC 157 može stupati u interakciju s dopaminergičkim (161,172) i serotonergičkim sustavom (165, 167), ali također i s drugim neuronskim sustavima, kao što su GABAergički (168, 169) i opioidni (170).

BPC 157 može imati posebnu interakciju sa serotonergičkim sustavom na sličan način kao s dopaminergičkim sustavom (165, 166). Posebno je autoradiografski određen specifičan učinak na serotonergički sustav i oslobađanje serotonina u različitim područjima mozga (166). Čak je i pojedinačna doza BPC 157 značajno smanjila regionalnu brzinu sinteze serotonina u dorzalnom talamusu, hipotalamusu, hipokampusu i lateralnom genikulatnom tijelu, dok je u substanciji nigri retikulati i medijalnoj prednjoj olfaktornoj jezgri ona bila pojačana (iako očekivana, nije bila promijenjena sinteza serotonina u jezgrama raphe) (166). Nakon 7-dnevnog liječenja dokazano je značajno smanjenje sinteze serotonina u dorzalnoj raphe jezgri, te povećanje u gornjoj olivi, supstanciji nigra, lateralnom caudatusu i accumbens jezgri.

Mehanizam ovog djelovanja svakako je uključen u određenu antidepresivnu aktivnost BPC 157 (167) i njegovo suprotstavljanje serotoninskom sindromu (165). BPC 157 je smanjio ili čak suzbio blage poremećaje u štakora koji su bili podvrgnuti pargilinu (MAO-A-inhibitor) (blaga hipotermija, slaba abdukcija stražnjih udova), pa čak i ozbiljan serotoninski sindrom u štakora koji su primali i pargilin i L-triptofan (prekursor serotonina) (165). Povoljan učinak BPC 157 na serotoninski sustav je hipotetski posredovan suprotstavljanjem fenomenologiji izazvanoj aktivacijom 5-HT2A receptora (165).

Uzimajući u obzir GABAergički sustav, kombiniranjem diazepama i BPC 157 evidentiran je nedostatak razvoja tolerancije, produljena rezidualna antikonvulzivna aktivnost i odgođena fizička ovisnost / znaci ispuštanja u diazepamom i BPC 157 kronično tretiranih miševa (169). Ovi rezultati su pokazali da BPC 157 može poboljšati učinkovitost diazepama (169). Isto tako, izravna usporedba anksiolitičkih učinaka BPC 157 i diazepama, u testu skrivanja na šok ili testu izloženosti svjetlu/tamiu potpunosti je naglasila to značenje (169). Međutim, nekoliko razlika pokazalo je da je aktivnost BPC 157 posebna i različita od diazepama (168). Prema tome, ovi rezultati pružaju dokaze da BPC 157 djeluje favorizirajući homeostazu GABAergičkog sustava, reguliranjem GABAergičke neurotransmisije, mehanizmom djelovanja, barem djelomično, različitim od onog koji je uključen u razvoj tolerancije i ispuštanja diazepama (174, 175). Iz svega navedenog je vidljivo zašto se BPC 157 smatra dijelom moždano-želučane osovine te kako njegov specifičan međuodnos s nekoliko neurotransmitorskih sustava može biti koristan u patologiji SŽS-a.

Oba, nalokson i BPC 157 se suprotstavljaju analgeziji induciranoj morfinom (170). BPC 157 se suprotstavlja analgeziji izazvanoj morfinom i pojačanju antinociceptivnog djelovanja morfina induciranog haloperidolom, ukazujući na to da BPC 157 djeluje uglavnom preko središnjeg dopaminergičkog sustava (170).

Daljnje studije proširuju dokaze da BPC 157 osim što suzbija akutni učinak (173) suzbija i kronični učinak amfetamina (164). Različiti antidepresivi imaju antiulkusno djelovanje i pokazano je da se na depresivne poremećaje može učinkovito utjecati primarnim antiulkusnim agensom s cito/organoprotektivnom aktivnošću, npr. sa želučanim pentadekapeptidom BPC 157 (165). BPC 157 je inhibirao oboje, akutnu alkoholnu intoksikaciju i simptome ustezanja alkohola (163). Osim toga, u korist međusobnih odnosa mozak-probava, štakori koji su primali alkohol i bili tretirani BPC 157 imali su portalni tlak na kontrolnim razinama, a poremećaji gastrointestinalnog trakta i jetre bili su neutralizirani (176, 177). BPC 157 je uzrokovao značajan antagonizam opće anestezije izazvane tiopentalom (178, 179). Encefalopatija inducirana nesteroidnim protuupalnim lijekovima i nastale lezije gastrointestinalnog trakta i

jetre smanjuju se ili potpuno nestaju nakon liječenja s BPC157 (180, 181). Predoziranjem paracetamola (182) ubrzano je inducirana progresivna hepatična encefalopatija s generaliziranim konvulzijama i odgovarajućim značajnim lezijama unutar nekoliko područja mozga. BPC 157 je smanjio oštećenja jetre i mozga. Konkretno, BPC 157 je suzbio konvulzije (histološko pretraživanje pokazalo je manje oštećenje neurona i smanjen intersticijalni edem bez upalne reakcije) (182). Primijenjeni režim inzulina kombinirao je djelovanje inzulina s ulkusom želuca, konvulzijama, teško oštećenim neuronima u kori mozga i hipokampusu, hepatomegalijom, masnom jetrom, slomom glikogena u jetri s dubokom hipoglikemijom i razvojem kalcifikacije, a BPC 157 djelovao protiv svih tih poremećaja (183). U modelu multiple skleroze, pri čemu je kuprizonom inducirana demijelinizacija i degeneracija oligodendrocita, BPC 157 uspješno zaustavlja razvitak encefalopatije i nastanak mišićne disfunkcije (160). Patohistološka analiza je pokazala manji broj lezija u nekoliko regija mozga, a promjerne u laterodorzalnom talamusu i jezgri reunions su bile najizraženije te tako dodatno potvrdile koristan učinak BPC 157 u modelu multiple skleroze (160). Uzimajući u obzir dokaze da je multipla skleroza karakterizirana progresivnim oštećenjem ili gubitkom oligodendrocita i da to može biti usko povezano s Egr-1 genom (176), treba posebno naglasiti učinak BPC 157. Naime, s obzirom na nedavno uvođenje agensa koji se koriste u ulceroznom kolitisu u terapiju multiple skleroze (npr. natalizumab), bit će zanimljivo istražiti BPC 157 s obzirom na njegov učinak na Egr-1 gen i njegov ko-represorski gen NAB-2 (184).

S već dokazanim potentnim učinkom na cijeljenja rana i ozljeda u različitim tkivima (185, 186), BPC 157 je isti učinak pokazao i u modelima traumatske ozljede živca, leđne moždine, ali i mozga (187-189). Ozljeda ishijadičnog živca, te posljedično anastomozirana ili ne anastomozirana ozljeda, pokazala je kako BPC 157 pospješuje cijeljenje živca tako što povećava dijametar i debljinu mijelinskih ploča. ali i broj mijeliniziranih vlakana i pripadajućih krvnih žila (188). Navedene promjene dovode do razlika u ponašanju testiranih životinja, ali i uvećanih akcijskih potencijala motornih vlakana pri elektrofiziološkim ispitivanjima (188). Kod traumatske ozljede mozga, BPC 157 je smanjio edem, smanjio veličinu i broj hemoragijskih traumatskih laceracija, ali je smanjio i intenzitet subarahnoidalnog krvarenja sa značajno umanjenim krvarenjem u intraventrikularne prostore (188). Kod ozljede leđne moždine, na razini L2-L3, BPC 157 je poboljšao motornu funkciju repa kao i reducirao spastičnost nakon četverotjedne aplikacije (189). Patohistološka analiza je pokazala smanjenje edema u sivoj tvari tretiranih životinja te manje izraženo difuzno aksonalno oštećenje (190), ukazujući na moguće djelovanje BPC 157 na nastanak i prevenciju sekundarne ozljede, a samim time i poboljšanog neurološkog oporavka.

1.3.2. Odnos stabilnog želučanog pentadekapeptida BPC 157 i NO sustava

Učinak BPC 157 i njegov međuodnos s NO sustavom prikazan je nedavno u preglednom radu (153) i referiran u nizu objavljenih radova (191-194). Povezanost BPC 157 i NO sustava osobito je vidljiva u njegovom sudjelovanju u Moncadinom homeostatskom odgovoru NO-sustava na ozljedu, u održanju integriteta krvnih žila i kontroli aktivnost trombocita (195). BPC 157 svoj učinak cijeljenja provodi tako da utječe na sve događaje nakon gubitka integriteta krvnih žila (190,196). Ovisno o uvjetima, BPC 157 smanjuje duboku vensku trombozu tako što otvara kolateralne krvne žile, te tako premošćuje venski defekt (196). Nadalje, BPC 157 smanjuje krvarenje i trombocitopeniju uzrokovanu produljenjim krvarenjem uslijed administracije heparina, varfarina ili aspirina (197). BPC 157 poboljšava cijeljenje kod različitih modela ozljeda, akutnih i kroničnih, čak i kod različitih organskih sustava (155,160,190,191).

Radi činjenice da se BPC 157 stvara u želučanoj sluznici te da ima značajan utjecaj na sintezu NO-a, ali i dokaza da postoji bazalno veće stvaranje NO-a u želučanoj sluznici u usporedbi s drugim tkivima, dovela je do hipoteze kako BPC 157 ima specifičnu interakciju s NO sustavom (153, 198). BPC 157 pokazuje općenito kompetitivni učinak prema L-argininu, ali i drugim tvarima koje imaju učinak na NO sustav (npr. L-NAME), te je za pretpostaviti da ima određenu fiziološku funkciju kada se govori o stvaranju NO-a (153,199). Sve navedeno podržava korisne učinke BPC 157 te dalje potkrjepljuje uzajamni odnos BPC 157 i NO sustava (s L-NAME/L-argininom, pojedinačno ili zajedno) u zaštiti želučane sluznice nakon alkoholne lezije citoprotekcijom, stvaranju NO-a i regulaciji krvnog tlaka (199, 200). Međuodnos BPC 157 i NO sustava je dalje vidljiv u akutnoj i kroničnoj alkoholnoj intoksikaciji kao i u sindromu ustezanja (162, 163, 200); u kardiovaskularnim poremećajima, kroničnom zatajenju srca, plućnoj hipertenziji i aritmijama (201, 202); u poremećajima nakon hipokalijemije i hiperkalijemije, kao i u disfunkciji stanične membrane izazvane kalijem (204, 205). Taj učinak je prisutan i u poremećaju cijeljenju rana (157,186,188,193, 205), ali i kod mnogo kompleksnijih oblika rana kao što je cijeljenje ezofagokutane i kolokutane fistule (205, 206). Iako do sada još nije utvrđen točni mehanizam pomoću kojeg BPC 157 sprovodi svoje učinke te kako se točno odvija interakcija s NO sustavom, pritom uzimajući u obzir specifičan učinak BPC 157 na gen za sintezu endotelne sintetaze NO-a (206), ali i na druge gene vezane uz NO sustav (196, 207), sigurno je da postoji određeni mehanizam interakcije BPC 157 i NO sustava. Konačno, pokazujući novi učinak i međusobne odnose pentadekapeptida BPC 157 i NO sustava u posebnom dobro postavljenim modelima psihoze i nuspojava izazvanih antipsihoticima,

učvrstilo bi pretpostavku, da BPC 157 može biti bitan sustav koji stupa u interakciju s NO sustavom i može doprinijeti u rješavanju simptoma sličnih psihozi i nuspojava antipsihotika.

1.4. Uloga modela na životinjama u procjeni potencijalno novih načina liječenja

Izučavanje shizofrenih bolesnika i mehanizma djelovanja antipsihotika snažno podržavaju gledište po kojem postoji hiperaktivni poremećaj dopaminskog sustava u shizofreniji (208, 209). Predloženo je da je dopaminergični poremećaj sekundaran u odnosu na primarni deficit glutamata u shizofreniji (210, 211). Izravni dokazi o deficitu u glutamatskom sustavu u shizofreniji ili učinkovitosti glutamatskih agonista su ograničeni ili proturječni (212). Hipoglutamatska hipoteza shizofrenije ostaje atraktivna na osnovu modela na životinjama u kojem izazov s nekompetitivnim antagonistima NMDA receptora, ketaminom, MK-801 i PCP dovodi do indukcije hiperlokomocije i deficita senzorimotornog filtera za koje se smatra da su u podlozi kliničkih abnormalnosti u shizofreniji (213). Nadalje, sugerira se da je hipoglutamatski model, koji imitira primarno hipoglutamatsko stanje, superioran konvencionalnom modelu sekundarnog hiperdopaminergičnog stanja (214). Kapur i Seeman (2002) (215) su utvrdili da ketamin i PCP pokazuju afinitet za dopaminske D_2 i serotoninske 5-HT_2 receptore koji je istog reda veličine kao njihov afinitet za NMDA receptore. Iako ketamin i PCP dovode do široko usmjerene perturbacije neurotransmiterskog sustava (216, 217), smatra se da su ti učinci sekundarni u odnosu na primarnu glutamatergičku alteraciju (210). Važno je naglasiti da ketamin i PCP imaju veliki (i usporediv sa NMDA) afinitet samo za visoko-afinitetno stanje D_2 i 5-HT_2 receptora, a pokazuju znatno manji afinitet pri nisko-afinitetnom stanju ovih receptora. To svojstvo ketamina i PCP da prave razliku između visoko- i nisko-afinitetnih stanja receptora karakteristika je agonističkih spojeva, što ukazuje da ketamin i PCP kao antagonisti NMDA receptora, mogu funkcionirati i kao agonisti D_2 i 5-HT_2 receptora. Zapravo, novija istraživanja pokazuju da ketamin i PCP dovode do stanja povećane, a ne smanjene glutamatne transmisije, dovodeći u pitanje upotrebu ovih spojeva u modelu "hipoglutamatske" hipoteze (128). Nadalje, smatralo se da se stanje hiperlokomocije i poremećaja senzorimotornog filtera mnogo učinkovitije korigira "atipičnim" nego "tipičnim" antipsihoticima. Međutim, potvrđeno je da tipični antipsihotici mogu jednako blokirati učinke ketamina i PCP u modelu na životinjama (218, 219). I, što je mnogo važnije, ispitivanje na bolesnicima s induciranom PCP-psihozom pokazuje da su tipični antipsihotici haloperidol i pimozid (selektivni$D_{2/3}$ blokator) znatno učinkovitiji od placeba i njihov učinak rezultira s remisijom svih simptoma (220-222). Ketamin i PCP u poređenju s konvencionalnim

apomorfinsko/amfetaminskim modelom dovode do šire rasprostranjenih i nespecifičnih neurokemijskih perturbacija koje obuhvaćaju izravne i neizravne promjene u glutamatskom, dopaminergičkom i serotonergičkom sustavu. U skladu s ovim nalazima, ukazano je da se aktivnost u ketaminskom/PCP *vs* amfetaminsko /apomorfinskom modelu razdvaja uglavnom na 5-HT_2 vs D_2 liniji: lijekovi s potentnijim djelovanjem u 5-HT_2 sustavu biti će učinkovitiji u PCP modelu; (223, 224) dok će lijekovi s prominentnim učinkom na D_2 receptorima biti učinkovitiji u apomorfinsko / amfetaminskom modelu (223), a lijekovi s miješanim djelovanjem će biti učinkoviti u oba modela bez obzira da li su antipsihotici ili ne (224). Hiperaktivnost u glodavaca je tipično korištena kao model pozitivnih simptroma shizofrenije. U slučaju hiperaktivnosti, značajno je napomenuti da PCP i ketamin induciraju hiperaktivnost u glodavaca, ali ustezanje u majmuna i miješano ponašanje u ljudi, s naglaskom na kompleksnosti prijenosa ponašanja između glodavaca (ili čak majmuna) i ljudi. Dopaminergična hiperaktivnost predstavlja dobar model pozitivnih simptoma u shizofreniji. Općenito, neizravno djelujući simpatomimetski agensi kao amfetamin imaju opće svojstvo izazivanja povećanog otpuštanja katekolamina i inbibicije ponovnog prihvata katekolamina (primarno dopamina) na živčanim okončinama u središnjem živčanom sustavu. Stereotipno ponašanje rezultat je aktivacije dopaminergičnog sustava u corpus strijatumu. Amfetamin i drugi spojevi koji stimuliraju oslobađanje dopamina pouzdano induciraju pozitivne simptome kada se daju u odgovarajuće velikoj dozi. Nadalje, učinci amfetamina na ponašanje mogu se sigurno poništiti, u ljudi i u modelu na životinjama, deplecijom dopamina korištenjem spojeva kao što su rezerpin ili administracijom antagonista dopamina. Veza potencije antipsihotika i zauzetosti D_2 receptora jedna je od snažnijih odnosa u cijeloj kliničkoj medicini, a u većini ispitivanja s antipsihoticima navode se podaci klinički korisnog učinka na razini zauzetosti D_2 receptora od 60-80%. Ograničenje trenutnog pristupa u liječenju antipsihoticima, je to što ti lijekovi ne mijenjaju dopaminergičku nestabilnost povezanu sa shizofrenijom, nego samo preveniraju posljedice. Nadalje, mnogi bolesnici pokazuju perzistentne pozitivne simptome usprkos adekvatnom (ili čak prekomjernom) tretmanu s antipsihoticima, što pokazuje da dopaminergička hiperaktivnost sama po sebi nije dovoljna da objasni pozitivne simptome u svim slučajevima. Konačno, dopaminergički spojevi npr. amfetamin ne induciraju negativne simptome i kognitivnu disfunkciju. Tako je zapravo, model dopaminergičke nestabilnosti u shizofreniji, u najbolju ruku, relevantan primarno za pozitivne simptome ovog poremećaja. U shizofreniji je pokazano amfetaminom inducirano oslobađanje dopamina korištenjem SPECT (kompjuterizirana tomografija emisijom jednog fotona) i PET (pozitronska emisijska tomografija) slikovnih zapisa i različitih radioizotopima obilježenih spojeva (225, 226).

Međutim, u tim ispitivanjima, dopaminergička hiperaktivnost opažena je samo u pojedinaca za vrijeme akutnog stadija njihove bolesti. Izgleda, da antipsihotici ne djeluju na stupanj oslobađanja viška dopamina, jer su slični deficiti opaženi u liječenih i neliječenih bolesnika, što podržava tvrdnju da antipsihotici primarno djeluju na posljedice dopaminergičke hiperaktivnosti bez učinka na abnormalnosti koje su u podlozi bolesti (227). Tako, općenito, strijatalno otpuštanje dopamina može jedino služiti kao model egzacerbacije pozitivnih simptoma za vrijeme akutne dekompenzacije. I pored toga, to je ključna komponenta shizofrenije i tretman koji prevenira takvu dekompenzaciju bi bio terapijski važan u shizofreniji. U zdravih dobrovoljaca, administracija ketamina prije izazova s amfetaminom dovodi do dopaminergične hiperaktivnosti slično onoj opaženoj u shizofreniji. Porast razine oslobođenog dopamina nakon administracije ketamina izgleda da ne reflektira izravni učinak ketamina na dopamin (228), nego reflektira učinak ketamina na povratne krugove koji normalno služe da ograniče oslobađanje dopamina nakon administracije ketamina. Tako, poremećaji regulacije dopamina u shizofreniji, reflektiraju prije poremećaj NMDA posredovane dopaminergičke regulacije nego endogenu dopaminergičku disfunkciju. Perzistentne shizofreniji slične promjene u kogniciji (229) i izraženosti D_1 receptora pokazane su pri kroničnoj zloupotrebi ketamina, što ukazuje da bi se ponavljanim izlaganjem ketaminu mogao osigurati bolji model shizofrenije. Važna uloga modela shizofrenije na životinjama procjena je potencijalno novih načina liječenja. Izravno predviđanje PCP/NMDA modela shizofrenije je to, da su spojevi koji stimuliraju funkciju NMDA od koristi u shizofreniji.

1.4.1. Modeli lokomotorne hiperaktivnosti i stereotipije

Optimalni model psihijatrijskih poremećaja na životinjama treba biti evaluiran prema njegovoj valjanosti tj. sličnoj vrijednosti mjerenja, neurofiziološkom konceptu i farmakološkom profilu u kliničkom i eksperimentalnom modelu (230). Amfetamin imitira samo neke od aberantnih neurokemijskih nalaza shizofrenije npr. hiperdopaminergiju. Budući da je shizofrenija neurorazvojni poremećaj, akutne farmakološke manipulacije neće u potpunosti imitirati poremećaj. Amfetamin može imitirati pozitivne simptome shizofrenije i može biti korišten kao model određenih karakteristika shizofrenije. U modelu na životinjama, hiperaktivnost, hiperlokomocija i sterotipno ponašanje se smatraju tipičnim za pozitivne simptome u ljudi. Amfetamini povećavaju razinu dopamina u glodavaca i omogućuju reprodukciju pozitivnih simptoma shizofrenije (231). Amfetaminski model koji je adekvatan u repliciranju pozitivnih simptoma shizofrenije, nije pogodan kao kompletan model shizofrenije. Ponašanje u modelu shizofrenije na životinjama ima tendenciju da reflektira učinkovitost poznatih terapeutskih

spojeva i tako dovede do otkrića srodnih farmakoterapija. Kako je isključiva svrha modela da predvidi učinkovitost tretmana, vodeće načelo ovog postupka nazvano je farmakološkim izomorfizmom (232, 233). Mjerenje ponašanja ekstenzivno se koristi u stvaranju valjanog modela shizofrenije. Neke od tih mjera, npr. horizontalna lokomocija, neodgovaraju simptomatologiji shizofrenije i koriste se primarno kao funkcionalne mjere antidopaminergičke aktivnosti neuroleptika. Mjerenje lokomotorne hiperaktivnosti koristi se naširoko u karakterizaciji učinaka dopaminergičkih psihostimulansa i antagonista NMDA receptora. Mada shizofreni bolesnici nisu tipično hiperaktivni, oni često ispoljavaju ponavljajuće ili stereotipno ponašanje. Stoga, su mnoge studije na glodavcima usmjerene na obrazac stereotipija izazvanih psihostimulansima. Dopaminska hipoteza shizofrenije evoluirala je u užu hipotezu, prema kojoj je mezolimbički dopaminski sustav, jasno odvojen od nigrostrijatalnog dopaminskog sustava, od veće važnosti za shizofreniju. Nigrostrijatalni dopaminski sustav se sada smatra važnijim za diskinetičke nuspojave antipsihotičkog tretmana. Čini se da mezolimbički sustav posreduje lokomotorne učinke nižih doza amfetamina, dok nigrostrijatalni sustav posreduje stereotipije koje predominiraju kod viših doza amfetamina (234). Stoga, izgleda da su stereotipije za koje se originalno mislilo da najviše odgovaraju stanju bolesti u ljudi, neurobiološki više povezane s fenomenom nuspojava kliničkog tretmana. Ustvari, svaki učinak amfetamina u štakora, uključujući lokomotornu hiperaktivnost i stereotipiju, imaju visok stupanj farmakološkog izomorfizma kao model uspješnosti dopaminskog antagonističkog tretmana shizofrenije. Ocjena ponašanja, najraširenija metodologija evaluacije stereotipije, bodovni je sustav subjektivno definiranih odrednica jačine za svako stereotipno ponašanje, zasnovan na opisu skupa kategorija ponašanja (235, 236). Da bi se savladali problemi s konvencionalnim ocjenjivanjem ponašanja, pun opseg stereotipnog ponašanja opisuje se s dva glavna čimbenika: općom učestalosti i/ili trajanjem stereotipnog ponašanja (npr. jačina ili intenzitet) i obrascem ponašanja (237). Mada ekstrapolacija rezultata s modela glodavaca do kompleksnog sindroma kao što je psihoza može biti problematična, stereotipija u štakora koristi se kao prediktor sklonosti lijeka da izazove psihozu (222, 238). Sustavna primjena antagonista NMDA receptora izaziva lokomotornu aktivnost, stereotipno ponašanje i ataksiju u glodavaca. Pokazano je da je lokomotorna pokretljivost miševa povećana učinkom nekompetititvnog NMDA antagonista MK-801 i da antagonist dopaminskih receptora haloperidol blokira taj učinak (239, 240), što ukazuje da učinak MK-801 dijelom ovisi o središnjoj dopaminergičkoj transmisiji. Rao i sur. (1990) su zatim pokazali da antagonisti NMDA receptora MK-801, fenciklidin, deksoksadrol i ketamin povećavaju metabolizam dopamina u mezokortikalnim regijama štakora (241). Nekompetitivni antagonisti NMDA receptora također dovode do značajne stimulacije

lokomocije u miševa kojima su uklonjeni monoamini (242, 243), dok pretretman s haloperidolom ne antagonizira stimulaciju ambulacije inducirane s MK-801 (244), što ukazuje da je ambulatorna aktivnost ovih spojeva neovisna o dopaminu. Lezije izazvane 6-hidroksidopaminom ne preveniraju aktivirajuće učinke MK-801 na kretanje (245), potvrđujući ranije nalaze u miševa s deplecijom monoamina. Uz to, postoje dokazi da MK-801 ne izaziva učinke na ponašanje samo redukcijom neurotransmisije putem NMDA receptora ili interakcijom glutamata i dopaminskog sustava, nego i drugih sustava; adrenergičkih, kolinergičkih ili serotonergičkih neurona (246). To ponašanje ukazuje da su učinci antagonista NMDA receptora na dopaminergičku stimulaciju kompleksni. Nekompetitivni antagonisti NMDA receptora izazivaju također izrazitu inhibiciju apomorfinom induciranog ponašanja penjanja u dozama koje su daleko ispod onih koje izazivaju nuspojave u miševa (247) ukazujući da NMDA receptori igraju važnu ulogu u glutamatergičkoj modulaciji dopaminergičke funkcije na postsinaptičkim dopaminskim receptorima. Miševi tretirani s apomorfinom, miješanim D_1/D_2 agonistom, imaju tendenciju da usvajaju vertikalnu poziciju uz zid kaveza (248). Izgleda da je to ponašanje penjanja izazvano stimulacijom dopaminskih receptora u strijatumu (249). Ohno i sur., pokazali su da je otpuštanje dopamina stimulirano s NMDA u nucleus accumbens-u poništeno s inhibitorima NOS (250). Donori NO pak, povećavaju otpuštanje dopamina iz režnjeva strijatuma i smanjuju ponovni prihvat dopamina u sinaptosomama strijatuma (251, 252). S druge strane pokazano je da antagonisti NMDA receptora inhibiraju senzibilizaciju induciranu s psihostimulansima (253, 254). Antagonisti NMDA receptora antagoniziraju apomorfinom inducirano ponašanje uspinjanja ne samo u intaktnih miševa, nego i u miševa tretiranih s rezerpinom (255). Preosjetljivost dopaminskih receptora nakon ponavljane primjene psihostimulansa može se inhibirati s NOS inhibitorima, što ukazuje da NO sustav može modulirati dopaminergičku funkciju (256). Inhibicija psihostimulansima inducirane pojačane dopaminergičke funkcije klinički je vrlo važna radi smanjenja nuspojava izazvanih drogama, kao što su psihološka ovisnost i simptomi ispuštanja.

1.4.2. Model kognitivnog poremećaja induciran ketaminom (deficit prepoznavanja novog objekta, NORT)

Kognitivni deficiti u shizofrenih bolesnika su ključne značajke bolesti, i predskazuju stručnu i socijalnu invalidnost bolesnika (257). Brojna istraživanja su ukazala da bi funkcija glutamatergičkog sustava, posebno N-metil-D aspartat (NMDA) receptora, mogla biti poremećena u shizofreniji. Izloženost nekompetitivnom antagonistu NMDA receptora

ketaminu ili fenciklidinu (PCP) producira simptome koji su slični pozitivnim i negativnim simptomima shizofrenije u zdravih pojedinaca (258) i egzacerbiraju simptome u shizofrenih bolesnika (259). Uz to, ketamin, PCP, ili MK-801 induciraju shizofreniji slične simptome, uključujući kognitivne deficite, u štakora (260-262). Blokatori NMDA receptora remete ponašanje životinja u rješavanju zadatka u NORT (110, 263) ili OLT (263, 264). Prepoznavanje je tip memorije koji je oštećen u shizofreniji (265, 266) i poremećen ketaminom u štakora (265) i mladih zdravih volontera (267). Paradigma nije temeljena na nagrađivanju nego na spontanom istraživačkom ponašanju glodavaca (268). Neprostorni deficit pamćenja induciran ketaminom testiran je pomoću zadatka prepoznavanja novog objekata (NORT) (268). Budući da u ovoj studiji test ne traje duže od 1 sata, može se smatrati testom kratkotrajnog pamćenja.

1.4.3. Modeli negativnih simptoma inducirani ketaminom

1.4.3.1. Test otvorenog polja (OFT)

Test otvorenog polja uključuje susret glodavaca s novim otvorenim prostorom i pokreće bihevioralne i fiziološke reakcije povezane s anksioznošću (269). Pored toga, motorička aktivnost testirana je kao neovisni parametar potencijalnih učinaka ketamina na lokomociju koji bi mogli utjecati na ponašanje štakora (270). Horizontalna lokomotorna aktivnost odražava ukupnu motoričku aktivnost životinje koja odgovara hodanju. Broj vertikalnih ponašanja (uspinjanja) mjera je reaktivnosti životinje na novo okruženje (271), a vrijeme provedeno u središnjem dijelu arene otvorenog polja smatra se mjerom anksioznosti (269). Test u otvorenom polju je neofobni test anksioznosti i temelji se na prirodnoj tendenciji glodavaca da izbjegavaju otvoreni prostor. Ovim se postupkom također ocjenjuje odgovor na novitet i upozoravajuće istraživačko ponašanje mjerenjem vertikalne aktivnosti (271, 272), kao i ukupne lokomotorne aktivnosti mjerenjem hodanja. Nadalje, ako štakori nisu prethodno smješteni u otvoreno polje, ovaj test također procjenjuje reakciju životinja na novosti (272).

1.4.3.2. Test anhedonije

Anhedonija, važna komponenta depresivnih simptoma, može se procijeniti na štakorima gubitkom sklonosti zaslađenoj vodi nad običnom vodom (273). U shizofreniji, anhedonija je dio negativnih simptoma i raspoloženja (274). Glodavci koji farmakološkim manipulacijama pokazuju svojstvo anhedonije pokazuju manji interes za vodu u koju je dodana saharoza i opaža se preferencijalni rezultat manji od 65% (275) ili jednostavno smanjuju volumen konzumirane otopine saharoze. Prethodni nalazi pokazuju da je konzumacijski hedonički kapacitet ostao netaknut korištenjem režima tretmana s PCP (213, 276, 277). Korištenje ovog postupka u

modeliranju negativnih simptoma stoga bi trebalo ograničiti na negativnu kontrolu, osiguravajući da upotrijebljeni uvjeti induciranja ne naruše konzumirajuću hedoničku reakciju (278).

1.4.3.3. Test socijalne interakcije (SIT)

Subkronični tretman s ketaminom značajno smanjuje vrijeme provedeno u socijalnoj interakciji i razinu pokretljivosti štakora (279-281). Ti rezultati ukazuju da ketamin može izazvati promjene ponašanja koje mogu predstavljati socijalni deficit u shizofreniji. Učinci ketamina u SIT u skladu su s kliničkim opažanjem da NMDA antagonisti induciraju neke aspekte negativnih simptoma shizofrenije, ukazujući na to da smanjena socijalna interakcija inducirana s ketaminom u štakora može predstavljati neke aspekte negativnih simptoma shizofrenije (282).

1.4.4. Test katalepsije

Sposobnost lijeka da egzacerbira katalepsiju označava njegovu antipsihotičku aktivnost (235). Idealna korelacija je utvrđena između antipsihotičke aktivnosti haloperidola i njegove kataleptičke potencije (236). Pozitivna korelacija je također utvrđena između smanjenja strijatalne dopaminske aktivnosti i intenziteta katalepsije izazvane haloperidolom. Ekstrapiramidalne nuspojave u ljudi mogu se predvidjeti prema katalepsiji u štakora (283). Međutim, poznato je da neuroleptici koji inhibiraju nigrostrijatalni dopaminski sustav induciraju katalepsiju, što je odgovorno za ekstrapiramidalne simptome izazvane ovim lijekovima (284). Obrnuto, neuroleptici s malo inhibitornog djelovanja u nigrostrijatalnom dopaminskom sustavu, npr. sulpirid i klozapin, ne izazivaju kataleptičko ponašanje (284, 285). To je u suglasju s kliničkim opažanjem, da ti lijekovi imaju značajno manju incidenciju ekstrapiramidalnih simptoma. Drugi istraživači također su ukazali na značajnu ulogu nigrostrijatalnog dopaminskog sustava u posredovanju neurolepticima-inducirane katalepsije (npr. 286, 287).

1.4.5. Test olanzapinom-inducirane intolerancije glukoze / rezistencije na inzulin

Pokazano je da je antipsihotična učinkovitost antipsihotika prve generacije (FGA) povezana s "neuroleptičkim" nuspojavama lijeka (288, 289). S druge strane, atipični antipsihotici uz ekstrapiramidalne nuspojave (iako manje od FGA) povezani su također s prekomjernim povećanjem težine i srodnim metaboličkim nuspojavama (290). Među atipičnim antipsihoticima, veza između porasta tjelesne težine i boljeg kliničkog ishoda liječenja pokazala

se za klozapin (291, 292), olanzapin (293, 294) i risperidon (295, 296). Mehanistička osnova za dopaminsku vezu, zajedničku ekstrapiramidalnim i metaboličkim nuspojavama induciranim neurolepticima, impresivno je razjašnjena u sveobuhvatnom pregledu (297). Iako su antipsihotici, poput olanzapina, kamen temeljac tretmana shizofrenije, povezani su s visokim učešćem dijabetesa tipa 2 i nedostatkom učinkovitosti kod kognitivnih poremećaja vezanih uz ovu bolest (298). Specifično, olanzapin ukida sposobnost inzulina u mozgu da suprimira proizvodnju glukoze u jetri što dovodi do neodgovarajuće produkcije glukoze. Štoviše, hiperglikemija i inzulinska rezistencija u mozgu povezani su s kognitivnim deficitom (299, 300). Stoga, antipsihoticima-inducirana rezistencija na insulin u mozgu može pogoršati ovaj aspekt psihopatologije shizofrenije (301). Korišten je pristup za određivanje homeostaze glukoze *in vivo* testom tolerancije glukoze u štakora.

1.4.6. Test metamfetaminom induciranog stanja senzibilizacije

Ispoljavanjem prve epizode bolesti shizofreni bolesnici bez terapije pokazuju povećano otpuštanje dopamina u strijatumu u odgovoru na akutni izazov amfetaminom (senzibilizirani odgovor) (227, 302, 303). Ovo podržava „hipotezu endogene senzibilizacije" kao osnovu barem pozitivnih simptoma shizofrenije (303, 304). Povećana osjetljivost na amfetamin u shizofrenih bolesnika sliči odgovoru na senzibilizaciju utvrđenom u životinja koje su ponavljano izlagane psihostimulansima (305). U glodavaca, tretman s psihostimulansom amfetaminom inducira stanje senzibilizacije ponašanja, fenomen koji je karakteriziran progresivnim pojačanjem ponašanja (npr. lokomocije, stereotipije) i povećanjem razine dopamina u ventralnom strijatumu u odgovoru na naknadni izazov sa tvari. Ovo stanje je najizraženije nakon produženog perioda apstinencije. Postoji slaganje da promjene u mozgu i promjene u ponašanju povezane sa fenomenom senzibilizacije ponašanja predstavljaju bolji model amfetaminske psihoze nego onaj koji je posljedica neurotoksičnosti amfetamina (306, 307). Dugotrajna priroda senzibilizacije ukazuje da aktivnost neurona inducirana takvim izlaganjem tvari, mada inicirana farmakološkim događajem, dovodi do relativno permanentnih staničnih i molekularnih promjena u SŽS. Postoje dokazi da terapija antipsihoticima započeta za vrijeme prodromalne faze može smanjiti početak potpuno izraženih psihotičnih epizoda (308, 309). Ovo je kontroverzna tema, međutim, ostaje nejasno da li antipsihotici čine nešto više nego što suprimiraju simptome i da li su uopće anipsihotici agens izbora u ranom stadiju shizofrenije (310, 311). Već je pokazano da BPC 157 slabi poremećaje ponašanja u štakora izazvane akutnom ili kroničnom primjenom amfetamina (164,173), međutim u ovom radu ispitivala se sposobnost BPC 157 i NO – spojeva (L-arginin i L-NAME) da spriječe progresiju

prodromalnog stanja shizofrenije. Zahtjev za stupnjevitom progresijom za vrijeme intervencije isključuje većinu obično korištenih modela pošto se oni oslanjaju na akutnu pojedinačnu injekciju tvari (npr. amfetamina ili MK-801) čemu slijedi mjerenje lokomocije ili ponašanja ili kognitivnih promjena (312, 313). Amfetaminom inducirano stanje senzibilizacije u štakora reflektira različite neurokemijske i kognitivne aspekte shizofrene psihoze (314). Životinje tretirane s eskalirajućim dozama intermitentnih injekcija amfetamina testiraju su 3-5 tjedana nakon izlaganja tvarima u *drug-free* stanju. Model amfetaminom induciranog stanja senzibilizacije povlači za sobom element longitudinalne progresije i njegova sveobuhvatna verzija se približava nizu fenotipskih i neurokemijskih karakteristika shizofrenije (315). Parcijalni režim injekcija amfetamina osigurava modificirani fenotip za koji se može smatrati da predstavlja „prodromalno“ stanje.

2. HIPOTEZA

Primjena pentadekapeptida BPC 157 će antagonizirati promjene ponašanja inducirane u modelima koji odgovaraju različitim simptomima psihoze i nuspojave izazvane antipsihoticima te je taj utjecaj posredovan preko NO sustava.

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći ciljevi rada

Sistematično i podrobno istražiti učinke BPC 157 u modelima psihoze i nuspojava antipsihotika na štakorima.

Istražiti učinke BPC 157 u predloženim modelima u interakciji s NO-spojevima, u uvjetima inhibicije NO-sustava [N^G-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME, inhibitor eNOS)] i/ili stimulacije NO-sustava [aminokiselina L-arginin (prethodnik NO-a)].

3.2. Specifični ciljevi rada

1. Pokazati razliku djelovanja BPC 157, L-arginina i L-NAME primijenjenjih samostalno i/ili zajedno u farmakološkim modelima psihoze i nuspojava antipsihotika: neurokemijskim modelima psihoze (amfetamin, apomorfin, MK-801), modelu katalepsije (haloperidol i L-NAME), modelu lokomotorne senzibilizacije (metamfetamin), modelu kognitivnog deficita (ketamin), modelu negativnih simptoma psihoze (ketamin), modelu intolerancije glukoze (olanzapin)
2. Otkrivanje molekularnih mehanizama kojima BPC 157 provodi svoje učinke

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Vrsta istraživanja

Istraživanje je provedeno kao prospektivna eksperimentalna pretklinička jednostruko slijepa studija. Osoba koja je ocjenjivala ponašanje životinja nije znala koji je tretman imala životinja. Svi pokusi su izvedeni u skladu s uputama Etičkog povjerenstva za korištenje laboratorijskih životinja (Suglasnost broj: 04-1114-2006).

4.2. Pokusi

4.2.1. Pokusne životinje

Pokusi su se izvodili na mužjacima laboratorijskih štakora soja Wistar, tjelesne mase 200-250 grama, dobi 3 tjedna, koje su uzgojene u nastambi za laboratorijske životinje Zavoda za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (br. Registracije HR-POK-007). Svi štakori su nakon prihvata iz uzgojne nastambe prošli 7 dana prilagodbe na nove uvjete gdje im bila ponuđena voda i hrana ad libitum. Svi štakori su korišteni samo jedanput u pokusu.

4.2.2. Lijekovi

Apomorfin (apomorfin hidroklorid, Sigma) se otopio u destiliranoj vodi sa 0,1% askorbinskom kiselinom. Ostali lijekovi su se otopili u fiziološkoj otopini neposredno prije pokusa i aplicirali intraperitonealno u volumenu 5 mL/kg: sintetski pentadekapeptid BPC 157 (Diagen, Ljubljana) (pretpostavljeni esencijalni fragment organoprotektivnog proteina želučanog soka, BPC (*vidi Patent, primjerice Sikirić i sur, Pharmacologically active substance, the process for its preparation, and its use in the therapy. EP 0432400),* korišten u dosadašnjim istraživanjima pentadekapeptida BPC 157, a sastoji se od petnaest aminokiselina: Gly-Glu-Pro-Pro-Pro-Gly-Lys-Pro-Ala-Asp-Asp-Ala-Gly-Leu-Val, M_t 1,419 Daltona. Dobiven je sintezom kako je opisano *(vidi Patent, primjerice Sikirić i sur., Peptides with organoprotective activity, the process for preparation them, and use in the therapy. EP 0572688).* Peptid čistoće 99 % korišten je u pokusima) 10 µg/kg, L-arginin (L-arginin, Sigma) 100,0 mg/kg i N^G-nitro-L-argininmetilester (L-NAME, Sigma) 5,0 mg/kg. Amfetamin (d-amfetaminsulfat, Sigma) 3,0 mg/kg, apomorfin 2,5 mg/kg i (+)-MK-801 (dizlociplin maleat, Sigma) 0,20 mg/kg upotrijebili su se za indukciju hiperaktivnosti. Ketamin (ketamin hidroklorid, Richter Pharma) 3,0 mg/kg koristio se za indukciju kognitivnog poremećaja, te ketamin S (+), Pfizer, USA 8,0 mg/kg za indukciju poremećaja socijalnog ponašanja i 30,0 mg/kg za proučavanje anksioznosti i

anhedonije u OFT i SPT. Haloperidol (haloperidol otopina 5,0 mg/ml, Janssen Pharmaceutica) 2,0 mg/kg i L-NAME (L-NAME, Sigma) 40,0 mg/kg se primijenio za indukciju katalepsije. Olanzapin (Zyprexa, Lilly, Netherlands) 15,0 mg/kg koristio se za indukciju intolerancije glukoze (i katalepsije). Metamfetamin (metamfetamin hidroklorid, Sigma) 1,0 mg/kg – 3,0 mg/kg koristio se za indukciju lokomotorne senzibilizacije. Svaka tvar pripremljena je na dan pokusa. Doze tvari koje su korištene izabrane su prema literaturi, i izabrane tako da izazovu željeno ponašanje koje se potom ocjenjivalo.

4.2.3. Grupe pokusa

Pokusi su podijeljeni na akutne (motorna hiperaktivnost, deficit zapamćivanja, negativni simptomi psihoze, katalepsija i intolerancija glukoze) i subkronične pokuse (indukcija lokomotorne senzibilizacije, i socijalna interakcija). Ukupno se u pokusima koristilo 558 štakora u svim pokusima. Svaka skupina se sastojala od 6 štakora (u testu socijalne interakcije (SIT) 6 pari štakora). U grupi akutnih pokusa ukupan broj štakora je bio 378 i agensi su bili aplicirani jednokratno. U subkroničnim pokusima, testu socijalne interakcije (SIT) i indukciji lokomotorne senzibilizacije koristilo se ukupno 180 štakora (96 štakora u SIT i 84 štakora u pokusu senzibilizacije metamfetaminom). U predretmanu aplicirali su se BPC 157 (10 μg/kg), L-NAME (5 mg/kg), L-arginin (100 mg/kg), samostalno i/ili zajedno, dok je kontrolna skupina dobila i.p. jednaki volumen fiziološke otopine (5 ml/kg). U pokusima katalepsije inducirane s L-NAME (40 mg/kg ip) i intolerancije glukoze/katalepsije inducirane olanzapinom (15 mg/kg ip) nije se koristila modulacija NO-sustava, nego su bile samo po 2 skupine (predtretman s fiziološkom otopinom i BPC 157). Doze tvari koje su korištene izabrane su prema podacima iz literature i predstavljaju doze koje izazivaju željeno ponašanje eksperimentalnih životinja. U akutnim pokusima BPC 157 (10 μg/kg t.t.) ili jednaki volumen fiziološke otopine (5 mL/kg) davani su skupa s drugim tvarima (/kg t.t.): apomorfinom (2,5 mg), amfetaminom (3,0 mg), MK-801 (0,2 mg), ketaminom (3,0 mg/kg, i 30 mg/kg), haloperidolom (2,0 mg), olanzapinom (15,0 mg). L-NAME (5,0 mg/kg) i L-arginin (100,0 mg/kg) davani su neposredno prije injiciranja ispitivanih tvari u pokusu. U subkroničnom SIT-u ketamin (8,0 mg/kg) je injiciran štakorima kroz 3 dana, dok su fiziološku, BPC 157, L-NAME i/ili L-arginin štakori dobili 30 min prije testiranja nakon treće doze ketamina.

4.3. Ocjena ponašanja eksperimentalnih životinja

4.3.1. Mjerenje motorne aktivnosti izazvane amfetaminom i apomorfinom

Štakorima se dopustila adaptacija na kaveze 1 h prije početka pokusa. Ispitivani lijekovi injicirali su se i.p. u pretretmanu u razmaku od 5 min prije injekcija amfetamina ili apomorfina. Za testiranje ponašanja, procjenjivalo se apomorfinom (2,5 mg/kg) i amfetaminom (3,0 mg/kg) inducirano stereotipno ponašanje. Ispitivani motorni odgovori uključivali su pokrete glave (njihanje) i šapa (prednjih i stražnjih), sterotipno njuškanje i oralnu stereotipiju (lizanje, grickanje). Stereotipija se kvantificirala svakih 10 min kroz 60 min ili 120 min neposredno nakon tretmana apomorfinom ili amfetaminom. Ljestvica motorne aktivacije adaptirana prema učincima apomorfina na motornu aktivnost (316) koristila se za mjerenje motorne aktivnosti i stereotipije. Progresija apomorfinom inducirane motorne aktivnosti slijedila je sljedeću ljestvicu: 0. inaktivan 1. intermitentni pokreti glave ili prednjih šapa; normalno eksplorativno ponašanje unutar kvadranta 2. izbijanja kontinuiranih pokreta glave (uključujući njuškanje) ili prednjih šapa; lokomocija uključuje jedan ili dva kvadranta 3. lokomocija i njuškanje kroz dva ili više kvadranta 4. kontinuirana lokomocija i njuškanje 5. kontinuirano njuškanje lokalizirano na jedno područje kaveza; intermitentna oralna stereotipija 6. kontinuirana oralna stereotipija (lizanje, grickanje). Jednostavne ponavljajuće stereotipije, njuškanje, lizanje / grickanje i klimanje glavom su također ocjenjivane individualno: nisu prisutne (0), intermitentne (1), ili konstantne (2). Ocjenski sustav za ocjenu amfetaminske sterotipije adaptiran je prema učincima amfetamina na motornu aktivnost) (317-319): Amfetaminom inducirana motorna aktivnost slijedila je ljestvicu od 0 – 4: 0. – neaktivni; 1.normalno istraživačko ponašanje; 2. eksploracija i uspinjanje; 3. „stereotipno kimanje glavom“ s pokretima prednjih šapa i prisutnom lokomotornom aktivnošću; 4. snažno kimanje glavom i prednjih nogu, s intenzivnom lokomotornom i reverznom lokomotornom aktivnošću.

4.3.2. Mjerenje motorne aktivnost izazvana s MK-801

Štakorima se dopustila adaptacija na kaveze 1 h prije početka pokusa. Tada su se administrirali ispitivani lijekovi u razmaku od 5 min i nakon njih injicirali MK-801 (0,2 mg/kg) ili jednak volumen fiziološke otopine i.p. Slijedilo je praćenje i videozapis ponašanja i ocjenjivanje 15 min nakon injekcije MK-801 i kroz 60 min (15-75 min postinj.). Svaki štakor se ocjenjivao kroz 30 s svakih 5 min za vrijeme promatranja u trajanju od 60 min, što je rezultiralo s 13 perioda promatranja. Ukupni zbroj za svako ponašanje postigao se zbrajanjem individualnih

ocjena iz 13 perioda promatranja. Ostvarene su očekivano tri vrste ponašanja: lokomocija, stereotipno njuškanje i ataksija. Vrijeme primjene ispitivanih spojeva bazirano je na prethodnim pokusima i farmakokinetici, tako da bi se postigla maksimalna koncentracija tvari u mozgu za vrijeme testiranja ponašanja. Ocjene ponašanja za MK-801-induciranu lokomociju, stereotipno njuškanje, i ataksiju u štakora (320) - Karakteristike ocjena ponašanja: *Lokomocija* 0-mirni; 1-kretanje u lokaliziranom području, samo prednje šape; 2-intermitentno kretanje unutar pola područja kaveza; 3-kontinuirano kretanje unutar pola područja kaveza; 4-intermitentno kretanje unutar cijelog područja kaveza; 5- kontinuirano kretanje unutar cijelog područja kaveza *Stereotipija* 0-bez njuškanja; 1-povremeno njuškanje (slobodni interval duži od 5 s); 2-kontinuirano njuškanje. *Ataksija* (ocjenjivala se za vrijeme lokomocije) 0-normalna kontrola tijela; 1-tendencija padu pri kretanju; 2-padanje pri kretanju; 3-gotovo nesposobni za kretanje.

4.3.3. Ocjena kognitivnog deficita induciranog ketaminom (test prepoznavanja novog objekta, NORT)

U pokusu se koristio otvoreni okvir napravljen od drveta 65 x 45 x 45 cm (visina). Žarulja pričvršćena na stropu osiguravala je osvjetljenje od oko 40 luksa na razini aparata. Objekti koje je trebalo diskriminirati bili su plastične figurice napunjene pijeskom u tri različita oblika: kocke, piramide i cilindra (321). Visina objekata je bila usporediva (~12 cm), i težina im je bila takva da ih štakori nisu mogli pomaknuti. Svi objekti i lokacije korišteni su na uravnotežen način da bi se isključila moguća preferencija za objekt i/ili lokaciju. Da bi se izbjegle olfaktorne oznake, objekti i pod su brižljivo čišćeni sa 10% alkoholom nakon svakog pokusa. Prije pokusa, kroz 3 konsekutivna dana, dopušteno je štakorima da istažuju uređaj u trajanju 2 min. Testiranje se sastojalo od razdoblja po dva 2-min pokusa. Za vrijeme T1, dva identična uzorka (objekta) su bila plasirana u dva suprotna kuta aparata sa nasumičnim redosljedom. Štakor je postavljen u sredinu aparata i pušten da istražuje ta dva identična objekta. Nakon T1, štakor je vraćen u kavez u kojem je boravio određeno vrijeme između pokusa. Nakon toga, je bio izveden pokus T2. Za vrijemeT2, s novim objektom (N) zamijenjen je jedan od uzoraka korištenih u T1, tako, da su štakori bili ponovno izloženi prema dvama objektima: starom (S) i novom (N). Eksploracija je bila definirana kao upravljanje nosa prema objektu na rastojanju ne višem od 2 cm i/ili dodirivanje objekta nosom. Okretanje ili sjedenje na objektu nije smatrano eksplorativnim ponašanjem. Vrijeme koje su štakori proveli u istraživanju svakog objekta za vrijeme T1 i T2 bilježeno je štopericom. Svaki štakor koji je proveo manje od 5 s u istraživanju dva objekta unutar 2 min u T1 ili T2 bio je elimininiran iz studije. Iz tih mjerenja potom se

izračunavao niz varijabli: ukupno vrijeme provedeno u istraživanju dva identična objekta u T1, i vrijeme provedeno u istraživanju dva objekta (S) i (N) u T2. Diskriminacija između (S) i (N) za vrijeme T2 mjerena je uspoređivanjem vremena provedenog u istraživanju (S) sa vremenom provedenim u istraživanju (N). Pošto to vrijeme može biti pomaknuto razlikama u općim razinama eksploracije, izračunavan je indeks diskriminacije (D); D = N-S / N+S. D je omjer diskriminacije i predstavlja razliku u vremenu istraživanja izraženoj kao udio od ukupnog vremena provedenog u istraživanju dva objekta u T2. Uz to, također je bilježena motorna aktivnost svake životinje izražena kao ukupan broj koraka za vrijeme svakog pokusa (322, 323). U proučavanju učinaka ispitivanih spojeva na komponente memorije nakon učenja (pohrana i/ili ponovno pronalaženje), spojevi su administrirani odmah nakon T1. Za ovaj rad, izabran je 1-h interval između pokusa pošto je u tom vremenu prepoznavanje još uvijek intaktno u štakora tretiranih fiziološkom otopinom (324), a poremećaji izazvani ketaminom (hipermotilitet, stereotipija i ataksija) nisu bili opaženi (325).

4.3.4. Ocjena ponašanja u modelima negativnih simptoma induciranih ketaminom

4.3.4.1. Ocjena aktivnosti u testu otvorenog polja (Open field test, OFT)

U pokusima ketaminom induciranih negativnih simptoma prvo je kamerom bilježena lokomotorna aktivnost štakora kroz 20 minuta unutar arene otvorenog polja s bijelim podom omeđenim zidovima dimenzija 46 x 46 cm. Otvoreno polje bilo je podijeljeno crnim linijama na 64 kvadratića dimenzija 5,75 x 5,75 cm. Središnjih 16 kvadratića definirano je kao središnja zona, u kojoj je aktivnost životinja bila ocijenjena kao mjera ponašanja nalik anksioznosti (273). Test je izveden kao što je prethodno opisano (60,326). Štakori su testirani samo jednom na otvorenom terenu, i bili su u početku postavljeni u središte polja. Promatrane su varijable: (a) ukupan broj trajektorija (tj. horizontalna aktivnost), (b) broj trajektorija u središnjoj zoni otvorenog polja, (c) broj uspinjanja (tj. vertikalna aktivnost). Individualno su bilježeni podaci, a vrijednosti prikazane kao prosjek u 4 min blokovima ili kao ukupan rezultat za 20 min. Promjene u obrascu lokomocije u otvorenom polju, poput hiperaktivnosti (povećana vertikalna i horizontalna aktivnost) obično se tumače kao psihotično ponašanja. Simptomi anksioznosti ključna su značajka shizofrenije (273). Mjere ponašanja nalik anksioznosti uključivale su relativni udio trajektorija provedenih u istraživanju središnjih kvadrata u odnosu na one smještene uz zidove arene (327). Kako bi se izbjegla prisutnost mirisnih znakova, arena

otvorenog polja temeljito je očišćena s 20% etanolom, a zatim očišćena suhim papirom nakon svakog pokusa. Doza ketamina (Ketamin S (+), Pfizer, USA) 30 mg/kg temeljila se na radu Keilhoff i sur., (68).

4.3.4.2. Ispitivanje sklonosti saharozi (sucrose preference test, SPT)

Ispitivanje sklonosti saharozi slijedilo je nakon ispitivanja lokomotorne aktivnosti u otvorenom polju. Sklonost je ispitivana stavljanjem jedne životinje kroz 72 sata u kavez s dvije slučajno raspoređene identične gradirane bočice za vodu (promijenjena pozicija nakon svaka 24 h), jedne koja sadrži 250 ml vode i druge s 250 ml 1% saharoze u vodi (Sigma Aldrich, USA) (60). Svaka 24 h kroz 3 dana u slijedu mjeren je volume bočica. Sklonost saharozi je izračunata kao omjer unosa saharoze prema ukupnom unosu tekućine izraženo u postotcima (60).

4.3.4.3. Ispitivanje socijalne interakcije (test socijalne interakcije, SIT)

Pokus je izveden u otvorenoj areni (dužina, širina, visina: 150 x 100 x 40 cm), kako je opisano od Korosa i sur (2007) (279). Štakori smješteni u kavezima dobivali su kroz 3 dana injekcije testiranih tvari ili fiziološke otopine i bili testirani na dan posljednje injekcije nakon isteka vremena odgovarajućeg predtretmana. Svi štakori unutar jednog kaveza primili su identičan tretman. Na dan testiranja, štakori prethodno obilježeni bojom i bez međusobnog kontakta, dobili su identičan tretman i bili istovremeno plasirani u suprotne kutove arene. Njihovo ponašanje bilježeno je kamerom 10 min. Socijalno ponašanje mjereno za svakoog štakora u paru ocijenjeno kao trajanje socijalne interakcije uključivalo je: njuškanje, dotjerivanje, praćenje, udaranje, penjanje, skakanje, hrvanje/boksanje i puzanje ispod/iznad, partnera (328). Vrijeme provedeno od svakog štakora u paru u gore opisanim ponašanjima sumirano je u jedinstvenu ocjenu socijalne interakcije. Osim toga, bilježila se lokomotorna aktivnost izražena kao ukupan broj koraka svakog štakora u paru za vrijeme promatranja od 10 min. S ciljem brisanja olfaktornih tragova, arena je očišćena s 20% etanolom nakon svakog pokusa i osušena papirom.

4.3.5. Određivanje katalepsije

Mjerenje u pokusu katalepsije započelo je 10 min nakon aplikacije haloperidola ili 20 min nakon aplikacije L-NAME, postavljanjem prednjih šapa na horizontalnu prečku postavljenu 8 cm iznad poda, dok su njihove stražnje šape ostale na podu (329, 330). Latencija spuštanja se mjerila se svakih 10 minuta (granično vrijeme 360 sekundi) za ukupni period od 3h za haloperidol, odnsno 2 h za L-NAME.

4.3.6. Mjerenje olanzapinom inducirane intolerancije glukoze i katalepsije

4.3.6.1. Mjerenje olanzapinom inducirane intolerancije glukoze u GTT-u

Test tolerancije glukoze (GTT) mjeri tkivno uklanjanje intraperitonealno (i.p.) ubrizganog bolusa glukoze. Upotrijebljen je bolus od 1 g glukoze/kg/ml. Stresom inducirano povećanje razine kateholamina i kortizola može za posljedicu imati povećanu produkciju glukoze u jetri i utjecati na procjenu tolerancije glukoze (331). Svi su štakori bili podvrgnuti bazalnom GTT: početno mjerenje glukoze u krvi pri t = 0 praćeno je primjenom bolusa glukoze (1 g/kg/ml, i.p.) s ponovnim očitanjem razine glukoze u krvi pri t = 15, 45, 75 i 105 min. Štakori (n = 6 po skupini) su dodijeljeni prema rezultatima u bazalnom GTT u jednoj od skupina tretmana.

Štakorima koji su imali slobodan pristup hrani i vodi do 14 sati prije testa, neposredno nakon injekcije BPC 157 (10 ug/kg i.p.) ili fiziološke otopine (5 ml/kg i.p.) administriran je olanzapin (15 mg/kg i.p.).

Štakorima koji su imali slobodan pristup hrani i vodi do 14 sati prije testa, neposredno nakon injekcije BPC 157 (10 ug/kg i.p.) ili fiziološke otopine (5 ml/kg i.p.) administriran je bolus glukoze (1 g glukoze/kg/ml i.p.).

Trećoj skupina štakora koji su imali slobodan pristup hrani i vodi do 14 sati prije testa, 60 min nakon administracije olanzapina (15 mg/kg i.p.) injicirani su BPC 157 ili fiziološka otopina i bolus glukoze 1 g/kg/ml i.p.

Poremećaj regulacije glukoze u štakora određen je mjerenjem razine glukoze u krvi. Uzorci krvi prikupljeni su iz repa za detekciju glukoze u krvi pomoću ACCU-CHEK Activeglukometra (Roche, Švicarska). Mjerena je glukoza u krvi prije primjene lijeka, a zatim svakih 15 minuta kroz 150-180 minuta nakon BPC 157/GTT (332, 333).

4.3.6.2. Mjerenje sklonosti ekstrapiramidalnim nuspojavama (EPS) induciranim olanzapinom

Na zasebnim skupinama štakora mjerila se latencija spuštanja, definirana kao vrijeme u kojem je štakor spustitio šape s prečke. Tri pokusa provedena su za svakog štakora u 30, 60, 90 i 120 min (334).

4.3.7. Određivanje metamfetaminom inducirane lokomotorne senzibilizacije

U subkroničnom pokusu ispitivao se učinak BPC 157 u uvjetima inhibicije (L-NAME) i/ili stimulacije NO sustava (L-arginin) na metamfetaminom induciranu senzibilizaciju prema modelu "prodromalnog" stanja shizofrenije (314, 315). Štakori su bili podijelili u 14 grupa i podvrgnuli raznim stadijima doziranja metamfetamina. Svaki štakor je dobio i.p. injekciju metamfetamina ili fiziološke otopine (5 ml/kg). Injekcije su se davale 3 puta tjedno kroz 3 tjedna. Doza metamfetamina je rasla tjedno od 1,0 mg/kg u prvom tjednu, do 3,0 mg/kg u trećem tjednu. 0,9% NaCl grupa štakora dobivala je samo injekcije fiziološke otopine kroz tri tjedna programa senzibilizacije. Met skupini štakora administriran je puni režim eskalirajućih doza amfetamina za vrijeme 3 tjedna. Met + 0,9% NaCl skupina štakora primala je parcijalni režim injekcija. Ti štakori su primali metamfetamin samo za vrijeme prvog tjedna i injekcije fiziološke otopine za vrijeme drugog i trećeg tjedna. Met/BPC 157/L-NAME/L-arginin štakorima administriran je metamfetamin samo za vrijeme prvog tjedna, i potom 10 μg/kg BPC 157/5,0 mg/kg L-NAME/100,0 mg/kg L-arginina skupa s metamfetaminom za vrijeme drugog i trećeg tjedna režima senzibilizacije. Štakori BPC 157/L-NAME/L –arginin grupa primali su fiziološku otopinu u prvom tjednu i potom 10 μg/kg BPC 157/5,0 mg/kg L-NAME/100,0 mg/kg L-arginina. Injekcije su se davale 3 puta tjedno kroz 3 tjedna. BPC 157/L-NAME/L-arginin i fiziološka otopina su se injicirali i.p. 5 min prije svake doze metamfetamina od drugog tjedna. Nakon posljednje injekcije životinje su ostavljene bez lijekova 28 dana prije testiranja. Testiranje se izvelo nakon injekcije metamfetamina (0,5 mg/kg i.p.), tako da se lokomotorna aktivnost mjerila kroz 1 sat.

Tablica 1. *Plan pokusa za procjenu učinka BPC 157 nametamfetaminom induciranu senzibilizaciju u uvjetima inhibicije i stimulacije NO-sustava.*

Naziv skupine	**Tretman**			**Broj životinja**
	Tjedan 1	**Tjedan 2**	**Tjedan 3**	
Fiziološka	Fiziološka (5 ml/kg)	Fiziološka (5 ml/kg)	Fiziološka (5 ml/kg)	6
L-NAME + fiziološka	Fiziološka (5 ml/kg)	L-NAME (5 mg/kg)	L-NAME (5 mg/kg)	6
L-arginin + fiziološka	Fiziološka (5 ml/kg)	L-arginin (100 mg/kg)	L-arginin (100 mg/kg)	6
BPC 157 + fiziološka	Fiziološka (5 ml/kg)	BPC 157 (10 µg/kg)	BPC 157 (10 µg/kg)	6
L-arginin + L-NAME + fiziološka	Fiziološka (5 ml/kg)	L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	6
Metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg)	6
Fiziološka + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Fiziološka (5 ml/kg)	Fiziološka (5 ml/kg)	6
BPC 157 + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + BPC (10 µg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + BPC (10 µg/kg)	6
L-NAME + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	6
L-arginin + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + L-arginin (100 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + L-arginin (100 mg/kg)	6
L-arginin + L-NAME + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg	Metmfetamin (2 mg/kg) + L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	Metmfetamin (3 mg/kg) + L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	6
BPC 157 + L-arginin + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) + L-arginin (100 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) +L-arginin (100 mg/kg)	6
BPC 157 + L-NAME + metamfetamin	Metmfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	6
BPC 157 + L-arginin + L-NAME + metamfetamin	Metamfetamin (1 mg/kg)	Metamfetamin (2 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) + L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	Metamfetamin (3 mg/kg) + BPC (10 µg/kg) + L-arginin (100 mg/kg) + L-NAME (5 mg/kg)	6

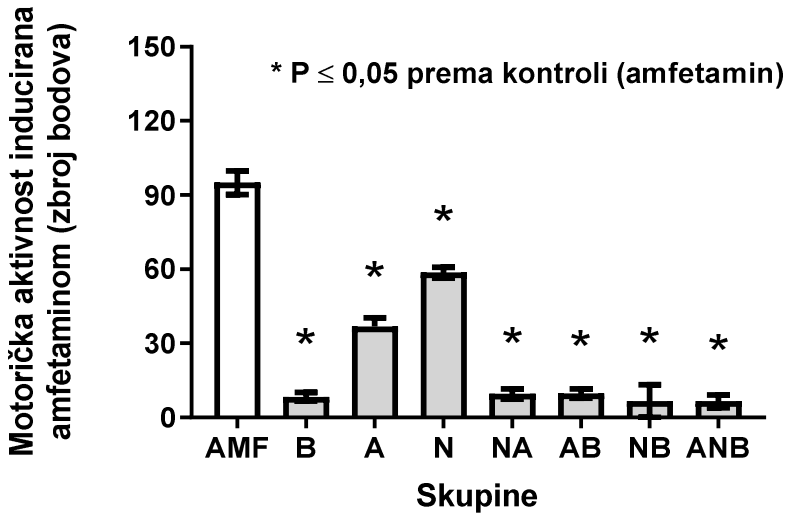
4.4. Analiza podataka

Analiza podataka i crtanje grafikona obavljeni su pomoću aplikacije Kyplot verzije 6 (https://www.kyenslab.com/en-us/about-kyplot-6/) i GraphPad Prism verzije 5 (https://www.graphpad.com/sciaching-software/prism/). Svi primijenjeni testovi bili su dvosmjerni, a vrijednosti $P \leq 0,05$ smatrane su kao statistički značajne (336). Usporedba dvije skupine izvedena je pomoću Mann-Whitneyevog testa. Usporedba više skupina s kontrolnom skupinom obavljena je Dunnettovim testom višestruke usporedbe (336). Vremenske serije su sažete koristeći pristup ispod krivulje (AUC), koji su predložili Machin i Campbell (336). Na taj se način izbjegava problem lažno pozitivnih rezultata zbog velikog broja ponovljenih mjera.

5. REZULTATI

5.1. Motorička aktivnost izazvana amfetaminom

Administracija amfetamina izazvala je snažne poremećaje: uočeni su povećana lokomotorna aktivnost, podizanje glave i pokreti šapa (slika 1). Primjena BPC 157 snažno se suprotstavila poremećajima izazvanih amfetaminom. Isto tako, pojedinačna primjena ili L-NAME ili L-arginina rezultirala je sa značajnim suprotstavljanjem. Kombinirana primjena (L-NAME+L-arginin, BPC 157+L-NAME, BPC 157+L-arginin, BPC 157+L-NAME+L-arginin) dovela je do sličnog suprostavljajućeg učinka. Tako ovdje nema dokaza da bi se L-NAME i L-arginin (L-NAME + L-arginin) mogli suprotstaviti međusobnom učinku. Isto tako, BPC 157 zadržava suprotstavljajući učinak u prisutnosti blokade NOS-a (BPC 157 + L-NAME), prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157 + L-arginin) ili imobilizacije NO sustava (BPC 157 + L-NAME + L-arginin).

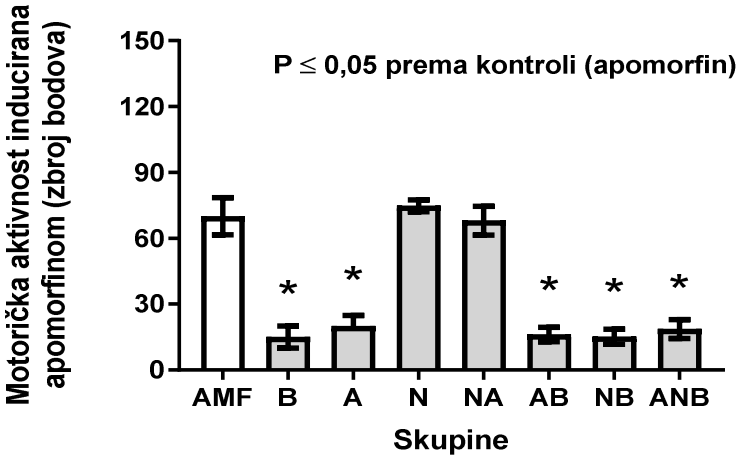


Slika 1. *Rezultati motoričke aktivnosti inducirane amfetaminom.*

Prikazani su rezultati testa motoričke aktivnosti inducirane amfetaminom, srednja vrijednost i 95 postotni intervali pouzdanosti. Lokomotorna aktivnost i stereotipija kvantificirani su svakih 5 min tijekom 120 minuta odmah nakon tretmana amfetaminom. Ukupna ocjena ponašanja dobivena je zbrajanjem pojedinačnih ocjena pružajući 100 kao maksimalnu ocjenu od 25 kontrolnih točaka. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (AMF), bijeli stupac) dani 5 minuta prije amfetamina (3,0 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (AMF) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P <0,0001, F 494,5.

5.2. Motorička aktivnost izazvana apomorfinom

Akutni tretman apomorfinom (3,0 mg/kg, i.p.) značajno je povećao učestalost usmjerene oralne stereotipije (ponašanje lizanja / grickanja) i njušenja (slika 2). Apliciran sam, BPC 157 se snažno suprotstavio motornim poremećajima induciranim s apomorfinom. Isto tako, primjena L-arginina rezultirala je izrazitim suprotstavljanjem. Suprotno tome, L-NAME nije imala učinka. Međutim, kombinirana primjena (L-NAME + L-arginin, BPC 157 + L-NAME, BPC 157 + L-arginin, BPC 157 + L-NAME + Larginin) proizvela je jedinstvene učinke. L-NAME se suprotstavio suprotstavljajućem učinku L-arginina na učinke izazvane apomorfinom (L-NAME + L-arginin). Za razliku od L-arginina, BPC 157 zadržava svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti NOS-blokade (BPC 157 + L-NAME). Isto tako, BPC 157 zadržava svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157 + L-arginin). Ilustrativno za odnos između BPC 157-L-arginina, BPC 157 je obnovio antagonizaciju (BPC 157 + L-NAME + L-arginin) kada je ona bila ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME + L -arginin).



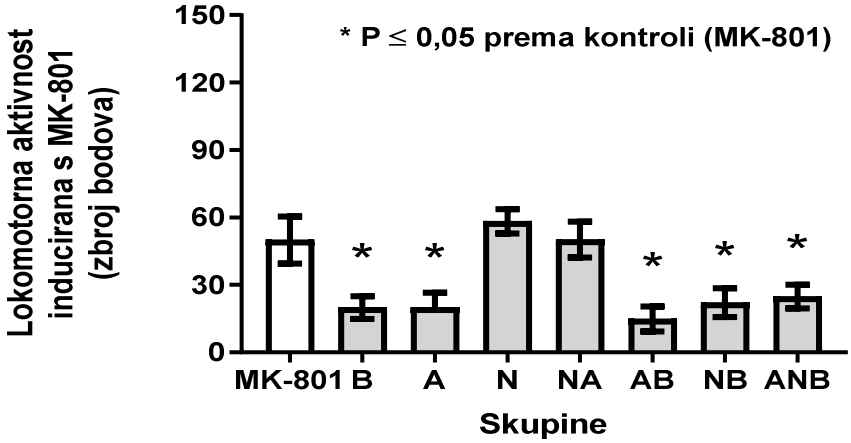
Slika 2. *Rezultati motoričke aktivnosti inducirane apomorfinom.*

Prikazani su rezultati testa motoričke aktivnosti inducirane apomorfinom, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Lokomotorna aktivnost i stereotipija kvantificirani su svakih 5 min tijekom 60 minuta odmah nakon davanja apomorfina. Ukupna ocjena ponašanja dobivena je zbrajanjem pojedinačnih ocjena pružajući 78 kao maksimalnu ocjenu od 13 kontrolnih točaka. Agensi (sivi stupci) (/kg intraperitonealno, BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (AP), bijeli stupac) dani 5 minuta prije apomorfina (2,5 mg/kg i.p.). Za usporedbu

kontrolne skupine (AP) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P < 0.05, F 540,5

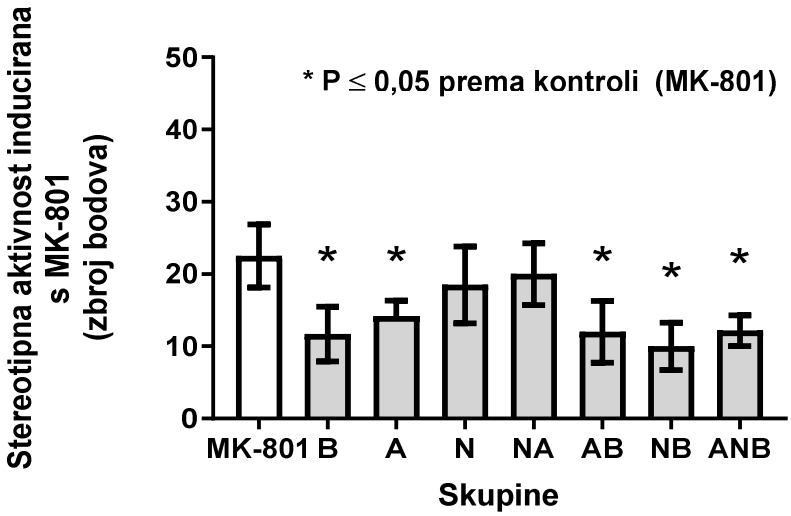
5.3. Hiperlokomocija, stereotipno ponašanje i ataksija izazvani sa MK-801

MK-801-inducirano ponašanje: lokomocija, sterotipno njuškanja i ataksija (slike 3-5). Aplicirani sami, BPC 157 ili L-arginin snažno se suprotstavljaju protiv svih poremećaja izazvanih s MK-801, dok primjena L-NAME nije imala učinka. Suprotno tome, kombinirano davanje (L-NAME + L-arginin, BPC 157 + L-NAME, BPC 157 + L-arginin, BPC 157 + L-NAME + Larginin) pokazuje da se L-NAME suprotstavlja suprotstavljajućem učinku L-arginina na poremećaje inducirane s MK-801 (L-NAME + L-arginin), dok BPC 157 zadržava svoj suprotstavljujući učinak u prisutnosti blokade NOS-a (BPC 157 + L-NAME) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157 + L-arginin). Kao i u apomorfinskih štakora, u MK-801 štakora BPC 157 je obnovio antagonizaciju (BPC 157 + L-NAME + L-arginin) kada je ona prethodno bila ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME + L-arginin).



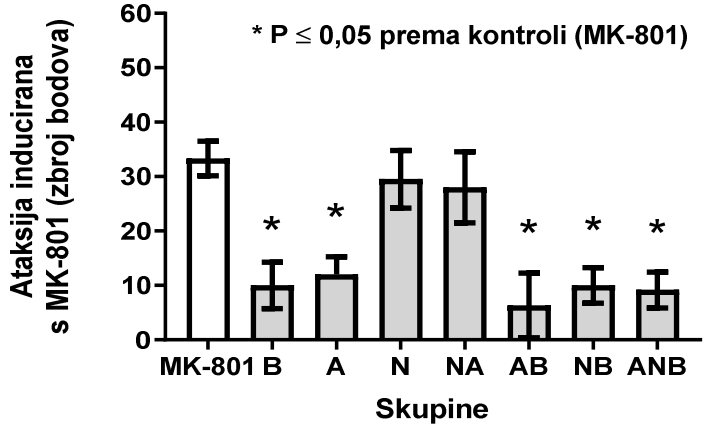
Slika 3. *Rezultati lokomotorne aktivnosti inducirane s MK-801.*

Prikazani su rezultati testa lokomotorne aktivnosti inducirane s MK-801, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali povjerenja. 60 min razdoblje ocjenjivanja (tj. 15-75 min nakon injiciranja) daje ukupni rezultat zbrajanjem pojedinačnih bodova pružajući maksimalnu ocjenu 65 od 13 kontrolnih točaka. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (MK-801), bijeli stupac) dani 5 minuta prije MK-801 (0,2 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (MK-801) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P> 0,001, F = 42,34



Slika 4. *Rezultati stereotipnog ponašanja induciranog s MK-801.*

Prikazani su rezultati testa stereotipnog ponašanja induciranog s MK-801, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali povjerenja.60 min razdoblje ocjenjivanja (tj. 15-75 min nakon injiciranja) daje ukupni rezultat zbrajanjem pojedinačnih bodova pružajući maksimalnu ocjenu 26 od 13 kontrolnih točaka. agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (MK-801), bijeli stupac) dani 5 minuta prije MK-801 (0,2 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (MK-801) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P> 0,001, F = 38,18



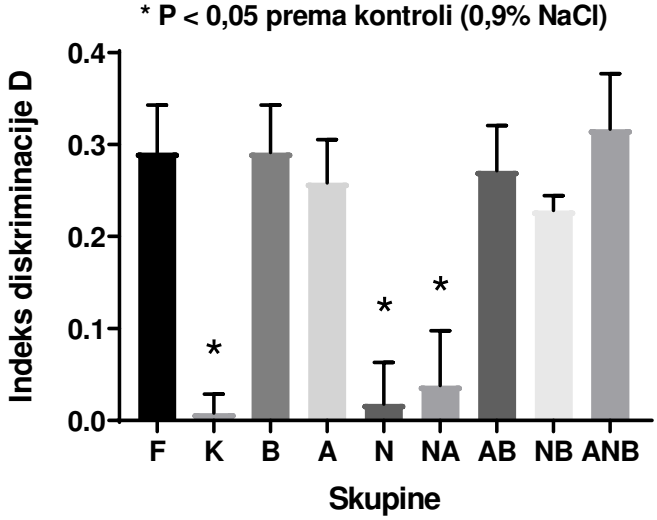
Slika 5. *Rezultati ataksije inducirane s MK-801*

Prikazani su rezultati testa ataksije inducirane s MK-801, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali povjerenja. 60 min razdoblje ocjenjivanja (tj. 15-75 min nakon injiciranja) daje ukupni rezultat zbrajanjem pojedinačnih bodova pružajući maksimalnu ocjenu 26 od 13 kontrolnih

poena. Lijekovi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (MK-801), bijeli stupac) dani 5 minuta prije MK-801 (0,2 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (bijeli stupac) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P> 0,001, F = 9,483

5.4. Kognitivni poremećaj induciran ketaminom (3,0 mg/kg i.p.)

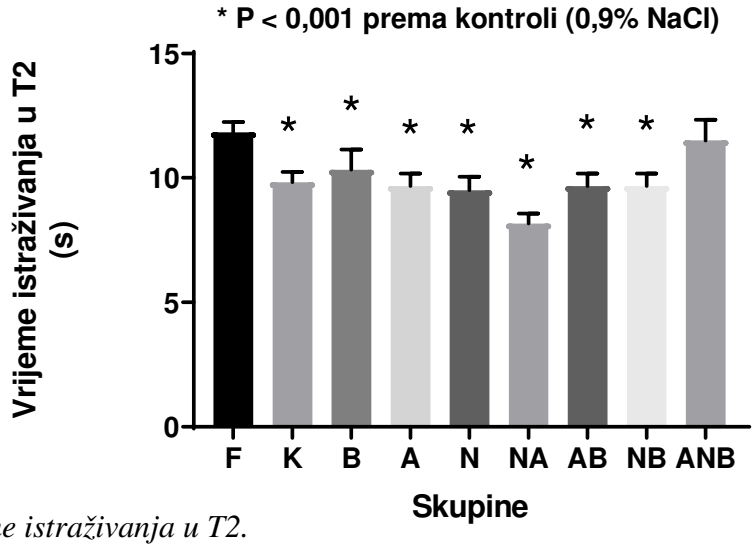
Akutni tretman ketaminom (3,0 mg/kg i.p.) izazvao je deficit prepoznavanja novog objekta u NORT (slika 6-8). Aplicirani sami, BPC 157 ili L-arginin su se snažno suprotstavili poremećaju izazvanom ketaminom, dok primjena L-NAME nije imala učinka u NORT-u. Suprotno tome, kombinirano je davanje (L-NAME+L-arginin, BPC 157+L-NAME, BPC 157+L-arginin, BPC 157+L-NAME+L-arginin) pokazalo da se L-NAME suprotstavlja suprotstavljajućem učinku L-arginina na poremećaje inducirane s ketaminom (L-NAME+L-arginin), dok BPC 157 zadržava svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti blokade NOS-a (BPC 157+L-NAME) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157+L-arginin). Kao i u apomorfinskih i MK-801 štakora BPC 157 je obnovio antagonizaciju (BPC 157+L-NAME+L-arginin) kada je ona prethodno bila ukunuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME+L-arginin).



Slika 6. *Indeks diskriminacije D izražen od različitih skupina štakora za vrijeme T2.*

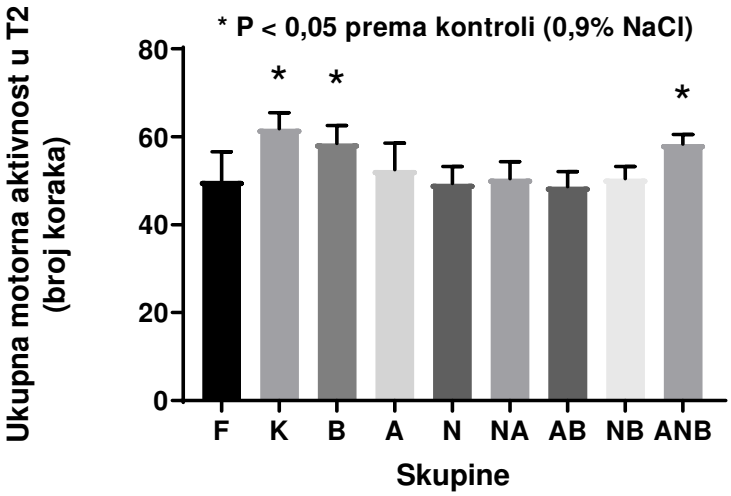
Prikazan je indeks diskriminacije D u zadatku prepoznavanja novog objekta (NORT) kod poremećaja induciranog ketaminom u T2, srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Spojevi su injicirani i.p. neposredno nakon T1. (Korišten je 1-h ITI.) Lijekovi (sivi

stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (3,0 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,05 u odnosu na fiziološku.



Slika 7. *Vrijeme istraživanja u T2.*

Prikazan je vrijeme istraživanja u T2 u zadatku prepoznavanja novog objekta (NORT), kod poremećaja induciranog ketaminom, srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Spojevi su injicirani i.p. neposredno nakon T1. (Korišten je 1-h ITI.) Lijekovi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (3,0 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,05 u odnosu na fiziološku.



Slika 8. *Ukupna lokomotorna aktivnost štakora u T2.*

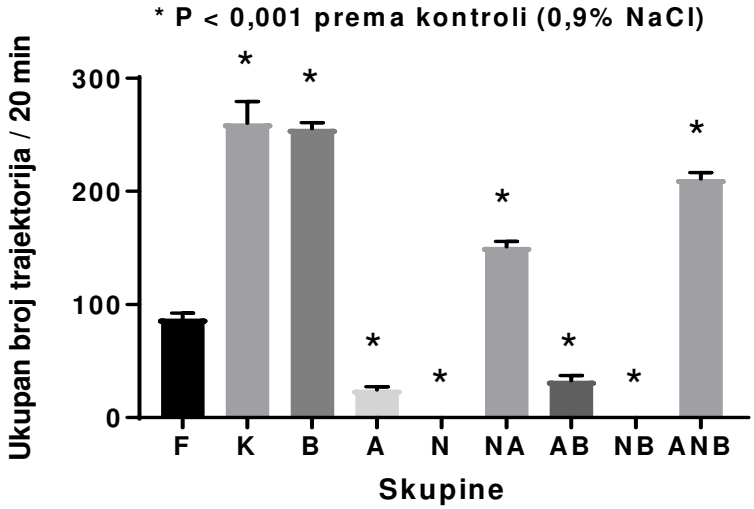
Prikazan je lokomotorna aktivnostu T2 u zadatku prepoznavanja novog objekta (NORT), kod poremećaja induciranog ketaminom, srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Spojevi su injicirani i.p. neposredno nakon T1. (Korišten je 1-h ITI.) Lijekovi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (3,0 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,05 u odnosu na fiziološku.

5.5. Negativni simptomi shizofrenije inducirani ketaminom

5.5.1. Ponašanje štakora u testu otvorenog polja (OFT) i testu sklonosti saharozi

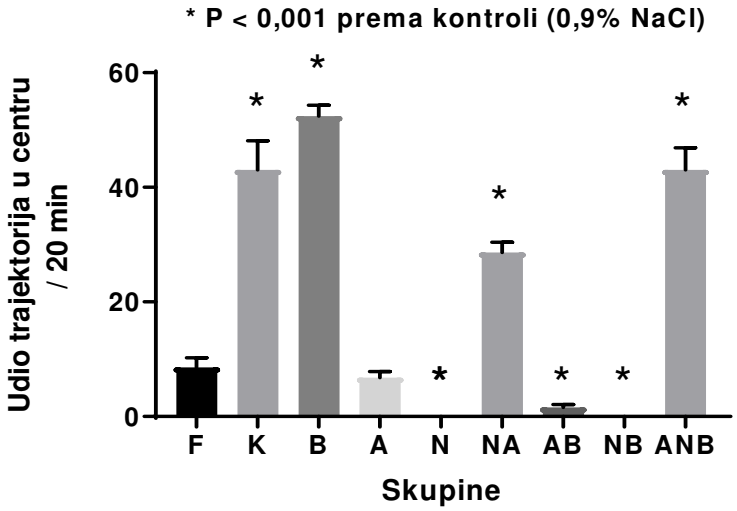
Ketaminom-inducirano ponašanje: hiperlokomocija (horizontalna i vertikalna aktivnost) (slike 9-11). Apliciran sam, BPC 157 je blokirao vertikalnu, ali nije smanjio horizontalnu aktivnost induciranu ketaminom, te je pokazao veći udio putanja u centru u odnosu na ketamin. L-arginin i L-NAME, nakon prve 2 minute, kada su štakori bili aktivni, izazvali su imobilnost i ataksiju u štakora. BPC 157 sam, nije djelovao na poremećaj lokomocije izazvan L-argininom, niti na imobilnost izazvanu s L-NAME, ali je sprječio ataksiju induciranu s L-NAME. Kombinirano davanje (L-NAME+L-arginin, BPC 157+L-NAME, BPC 157+L-arginin, BPC 157+L-NAME+L-arginin) pokazuje da se L-arginin suprotstavio suprotstavljajućem učinku L-NAME na poremećaje inducirane ketaminom (L-NAME+L-arginin), dok je BPC 157 izgubio svoj suprotstavljajući učinak u prisustvu blokade NOS (BPC 157+L-NAME) ili imao znatno smanjen učinak kod prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157+L-arginin). BPC 157 je

obnovio antagonizaciju (BPC 157+L-NAME+L-arginin) kada je ona bila prethodno bila oslabljena primjenom L-NAME (BPC 157+L-NAME) ili L-arginina (BPC 157+L-arginin). Iako su štakori u skupinama NA i ANB bili nestabilni, bili su lokomotorno aktivni, dok je njihova vertikalna aktivnost bila oslabljena ili odsutna. Ujedno, štakori te dvije skupine pokazali su povećani udio putanja u središtu otvorenog polja.



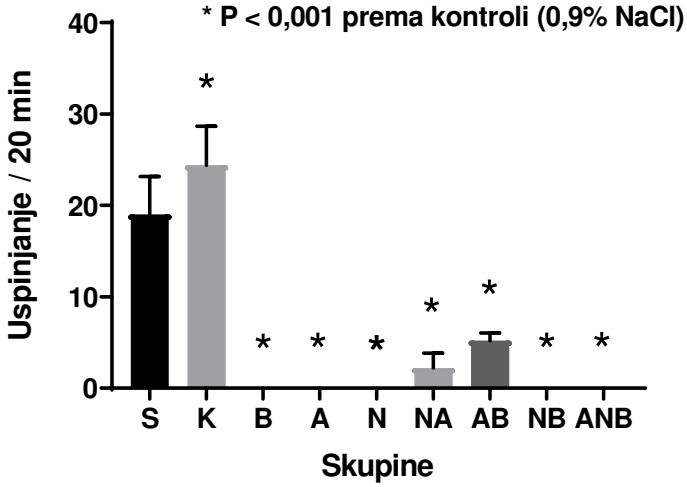
Slika 9. *Ukupan broj trajektorija u otvorenom polju / 20 min.*

Prikazan je ukupan broj trajektorija u otvorenom polju induciran ketaminom u testu otvorenog polja (OFT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (30,0 mg/kg i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene ketamina. Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.



Slika 10. *Udio trajektorija u centru otvorenog polja (%).*

Prikazan je udio trajektorija u centru otvorenog polja induciran ketaminom u testu otvorenog polja (OFT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (30,0 mg/kg i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene ketamina. Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.

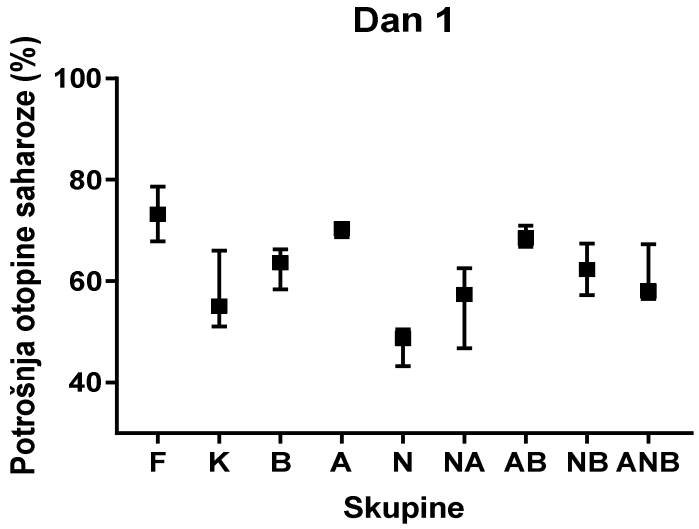


Slika 11. *Ukupan broj uspinjanja u otvorenom polju.*

Prikazan je broj uspinjanja u otvorenom polju induciran ketaminom u testu otvorenog polja (OFT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola F), crni stupac) dani 5 minuta prije ketamina (30,0 mg/kg i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene ketamina. Za usporedbu

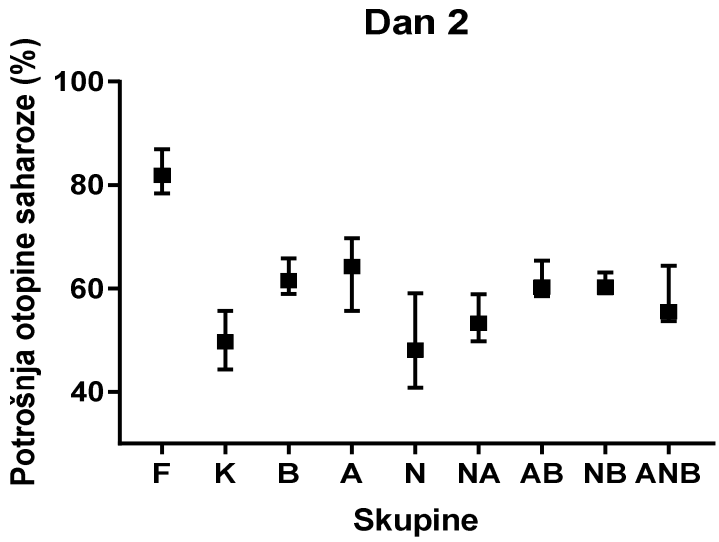
kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.

Ispitivanje preferencije saharoze nastavilo se nakon testa otvorenog polja (OFT) kroz 72 h. Anhedonija je inducirana akutnom primjenom ketamina.



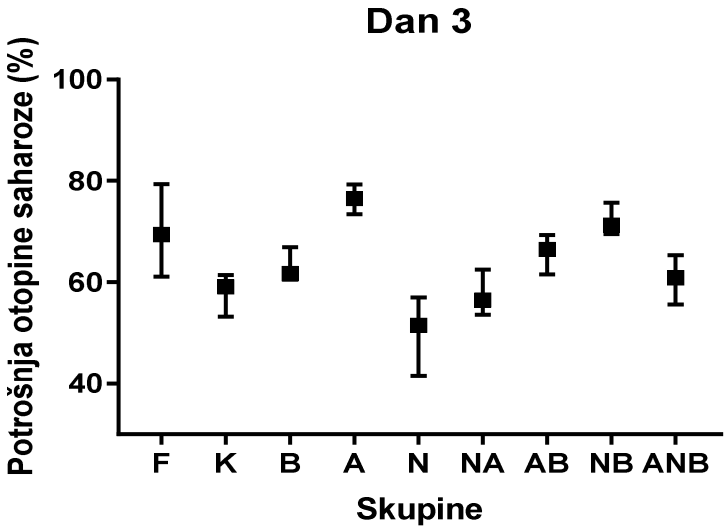
Slika 12. *Potrošnja otopine saharoze 1. dana (%)*

Prikazana je potrošnja otopine saharoze 1. dana inducirana ketaminom u testu preferencije saharoze (SPT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Ispitivanje preferencije saharoze nastavilo se nakon testa otvorenog polja (OFT) kroz 72 h. Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.



Slika 13. *Potrošnja otopine saharoze 2. dana (%).*

Prikazani je potrošnja otopine saharoze 2. dana inducirana ketaminom u testu preferencije saharoze (SPT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Ispitivanje preferencije saharoze nastavilo se nakon testa otvorenog polja (OFT) kroz 72 h. Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.



Slika 14. *Potrošnja otopine saharoze 3. dana (%).*

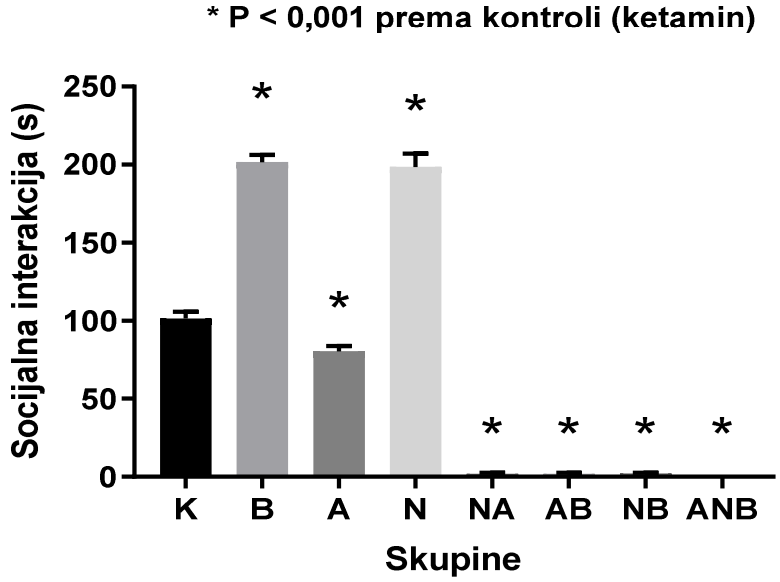
Prikazani je potrošnja otopine saharoze 3. dana inducirana ketaminom u testu preferencije saharoze (SPT), srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti. Ispitivanje preferencije saharoze nastavilo se nakon testa otvorenog polja (OFT) kroz 72 h. Za usporedbu kontrolne skupine (F) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na fiziološku.

Sumarno, predtretman s BPC 157 i L-argininom rezultirao je s anksiolitičkim učinkom. BPC 157 je značajno smanjio vertikalnu aktivnost induciranu ketaminom i doveo do oporavka ataksije izazvane s L-NAME. Pokazan je i učinak BPC 157 na povećanje preferencije saharoze i učinak L-NAME na smanjenje preferencije saharoze.

5.5.2. Socijalna interakcija (SIT)

Životinje kojima je administriran ketamin (8,0 mg/kg i.p.) ispoljile su određenu socijalnu interakciju i lokomotornu aktivnost u otvorenom polju (slika 15). Predtretman s BPC 157 i L-NAME značajno je povećao socijalnu interakciju u poređenju s kontrolom (ketamin). L-arginin je smanjio socijalnu interakciju u poređenju s kontrolom. Kombinirano davanje (L-NAME+L-arginin, BPC 157+L-NAME, BPC 157+L-arginin, BPC 157+L-NAME+L-arginin) pokazalo je

da se L-arginin suprotstavio suprotstavljajućem učinku L-NAME na poremećaje inducirane ketaminom (L-NAME+L-arginin), dok je BPC 157 izgubio svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti blokade NOS (BPC 157+L-NAME) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157+L-arginin). BPC 157 nije obnovio antagonizaciju (BPC 157+L-NAME+Larginin) kada je ona bila prethodno ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME+L-arginin).

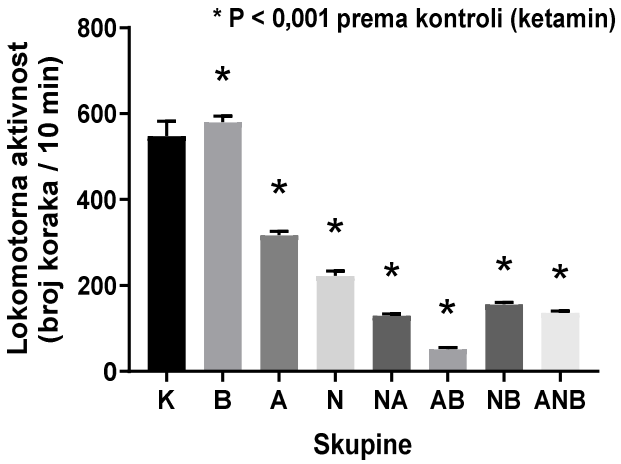


Slika 15. *Rezultati socijalne interakcije.*

Prikazani su rezultati socijalne interakcije u otvorenom polju u testu socijalne interakcije (SIT) inducirane ketaminom, srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti . Ketamin 8,0 mg/kg (kontrola (K), crni stupac) je administriran i.p. kroz 3 dana. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)) injicirani su i.p. na dan testiranja 5 min prije ketamina. Testiranje se izvelo na dan posljednje injekcije ketamina 30 min nakon odgovarajućeg predtretmana. Mjerenje socijalne interakcije i lokomotorne aktivnosti je počelo 5 minuta nakon primjene ketamina i trajalo 10 minuta. Za usporedbu kontrolne skupine (K) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na ketamin

Predtretman s BPC 157 je značajno povećao lokomotornu aktivnost u poređenju s kontrolom (ketamin). L-arginin i L-NAME su smanjili lokomotornu aktivnost u poređenju s kontrolom. Kombinirano davanje (L-NAME+L-arginin, BPC 157+L-NAME, BPC 157+L-arginin, BPC 157+L-NAME+L-arginin) pokazalo je da je L-arginin dodatno pojačao učinak L-NAME na smanjenje lokomotorne aktivnosti inducirane ketaminom (L-NAME+L-arginin), dok je BPC

157 izgubio svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti blokade NOS (BPC 157+L-NAME) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157+L-arginin). BPC 157 nije obnovio motoričku aktivnost (BPC 157+L-NAME+Larginin) kada je ona bila prethodno ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME+L-arginin).



Slika 16. *Rezultati lokomotorne aktivnosti u SIT-u.*

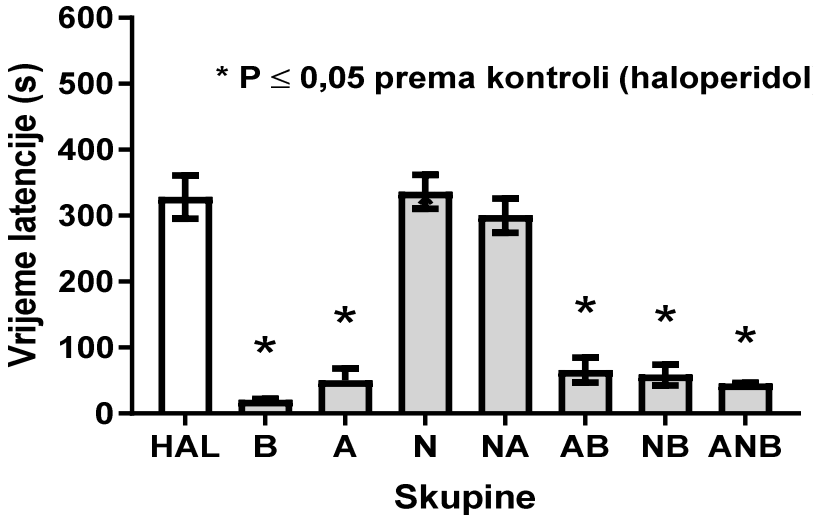
Prikazani su rezultati lokomotorne aktivnosti u otvorenom polju u testu socijalne interakcije (SIT) inducirane ketaminom, srednje vrijednosti i 95 postotni intervali pouzdanosti . Ketamin 8,0 mg/kg (kontrola (K), crni stupac) je administriran i.p. kroz 3 dana. Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)) injicirani su i.p. na dan testiranja 5 min prije ketamina. Testiranje se izvelo na dan posljednje injekcije ketamina 30 min nakon odgovarajućeg predtretmana. Mjerenje socijalne interakcije i lokomotorne aktivnosti je počelo 5 minuta nakon primjene ketamina i trajalo 10 minuta. Za usporedbu kontrolne skupine (K) s tretiranim skupinama korišten je Dunnettov test višestruke usporedbe. * P< 0,001 u odnosu na ketamin

5.6. Katalepsija inducirana s haloperidolom i L-NAME

5.6.1. Katalepsija inducirana s haloperidolom

U štakora kojima je administriran haloperidol (slika 17), ako se daju sami, BPC 157 ili L-arginin su pokazali snažno suprotstavljanje, dok L-NAME nije pokazala učinak. Zanimljivo, slično apomorfinskim i MK-801 štakorima (slike 2-5), u štakora kojima je apliciran haloperidol, kombinirana administracija (L-NAME + L-arginin, BPC 157 + L-NAME, BPC 157 + L-arginin, BPC 157 + L-NAME + Larginin) pokazuje da se L-NAME suprotstavlja suprotstavljajućem učinku L-arginina prema katalepsiji izazvanoj haloperidolom (L-NAME +

L-arginin). Kao i prije, BPC 157 zadržava svoje suprotstavljajuće djelovanje u prisutnosti blokade NOS-a (BPC 157 + L-NAME) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157 + L-arginin). Isto tako, BPC 157 vraća antagonizaciju (BPC 157 + L-NAME + L-arginin) kada je ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME + L-arginin).

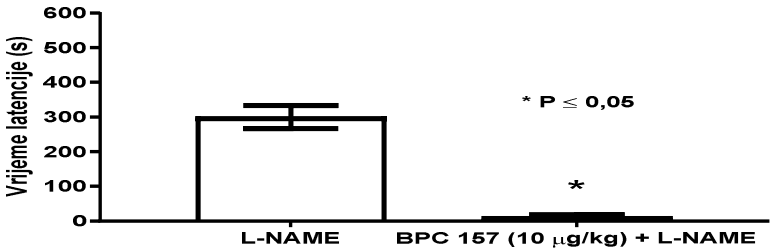


Slika 17. *Rezultati katalepsije inducirane haloperidolom.*

Prikazani su rezultati katalepsije inducirane haloperidolom, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Procjena je započela 10 min nakon primjene haloperidola. Procjena katalepsije izazvane haloperidolom podrazumijeva da su prednje šape svake životinje smještene na prečku a stražnje šape smještene na podu. Izmjereno je vrijeme kašnjenja spuštanja prednjih šapa s prečke. Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 10 min tijekom 3 sata (granično vrijeme 360 sek). Agensi (sivi stupci) (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 µg), L-arginin (A, 100 mg), L-NAME (N, 5 mg) sami i/ili kombinirani (NA, AB, NB, ANB)), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (HAL), bijeli stupac) koja se daje 5 min prije haloperidola (2,0 mg/kg i.p.). Za usporedbu kontrolne skupine (HAL) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * P> 0,001, F = 321,9

5.6.2. Katalepsija inducirana sa L-NAME

U štakora tretiranih s visokom dozom L-NAME u ispitivanju katalepsije inducirane s L-NAME (slika 18), BPC 157 je u potpunosti eliminirao katalepsiju izazvanu s L-NAME.



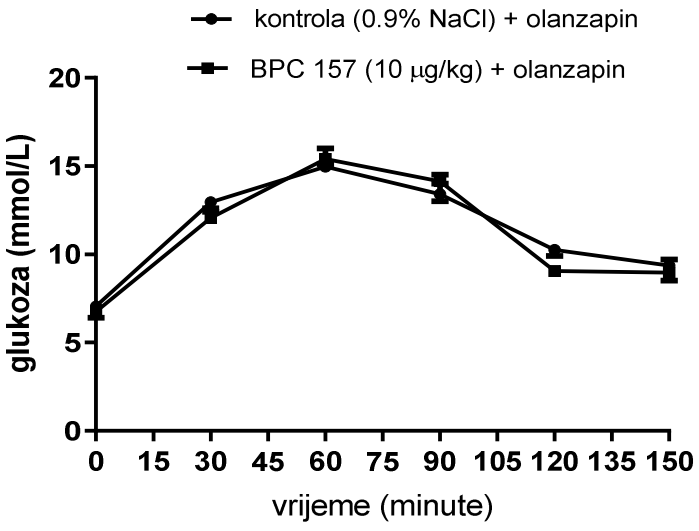
Slika 18. *Rezultati katalepsije inducirane sa L-NAME.*

Prikazani su rezultati katalepsije inducirane sa L-NAME, srednje vrijednosti i intervali pouzdanosti od 95 posto. Procjena je započela 20 minuta nakon primjene L-NAME. Procjena katalepsije izazvane s L-NAME podrazumijeva da su prednje šape svake životinje smještene na prečku a stražnje šape na pod. Izmjereno je vrijeme kašnjenja spuštanja prednjih šapa sa štapa. Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 10 min u ukupnom vremenskom razdoblju od 2 sata (granično vrijeme 360 sek). Agens (/kg i.p., BPC 157 (B, 10 μg), sivi stupac), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (L-NAME), bijeli stupac) dana odmah nakon L-NAME (40,0 mg / kg i.p.). Korišten je Mann-Whitney U-test.

5.7. Intolerancija glukoze inducirana olanzapinom

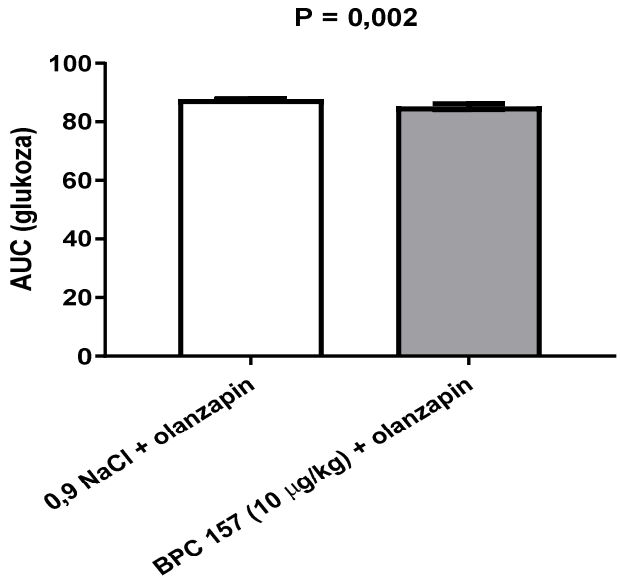
5.7.1. Interakcija olanzapina i BPC 157

Nakon injekcije olanzapina (i.p.) u normalnih štakora, razina glukoze u krvi se povisila od bazalnih razina u T0 do T60, nakon čega se polako vratila i stabilizirala na povišenim razinama. BPC 157 je signifikantno smanjio hiperglikemiju induciranu olanzapinom od 90 min (slika 19 i 20).



Slika 19. *Vremenski tijek glikemije inducirane olanzapinom.*

Prikazan je vremenski tijek glikemije inducirane olanzapinom, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (0,9% NaCl)) dani 5 minuta prije olanzapina (15,0 mg/kg i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene olanzapina. Za usporedbu kontrolne skupine (0,9% NaCl) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002

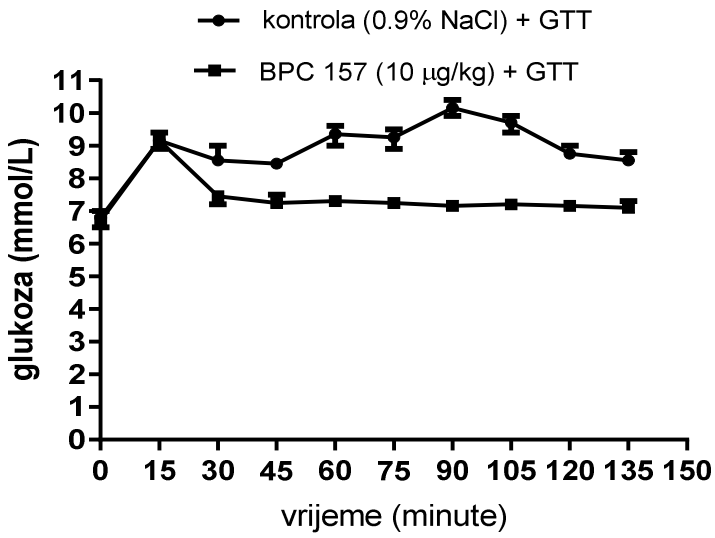


Slika 20. *Glikemija inducirana olanzapinom (AUC).*

Prikazana je površina pod krivuljom (AUC), srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (0,9% NaCl)) dani 5 minuta prije olanzapina (15,0 mg/kg i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene olanzapina. Za usporedbu kontrolne skupine (0,9% NaCl) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002

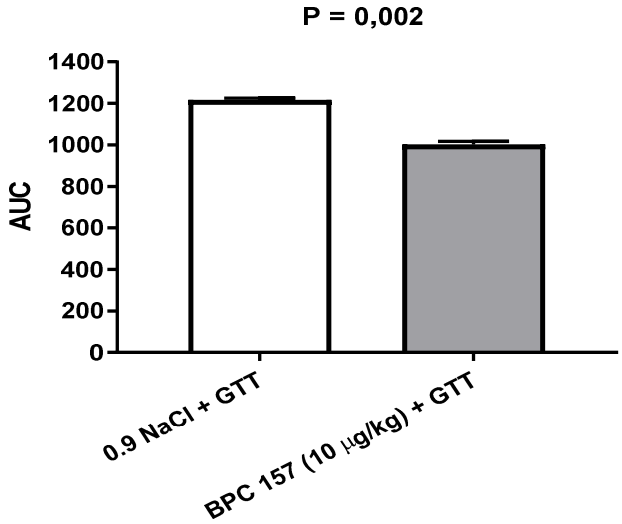
5.7.2. Intolerancija glukoze u GTT i BPC 157

Nakon injekcije bolusa glukoze, GUK je porasla od bazalne razine u T0 do do T15 i zadržala se na platou do T90, a nakon toga pokazala tendenciju polaganog povratka prema normalnim vrijednostima. BPC 157 je značajno smanjio glikemiju od T15 na signifikantno niže razine (slika 21 i 22).



Slika 21. *Vremenski tijek glikemije u testu tolerancije glukoze (GTT).*

Prikazan je vremenski tijek glikemije, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 μg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola (0,9% NaCl)) dani 5 minuta prije bolusa glukoze (1 g/kg/ml i.p.). Procjena je počela 5 minuta nakon primjene glukoze. Za usporedbu kontrolne skupine (0,9% NaCl) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002



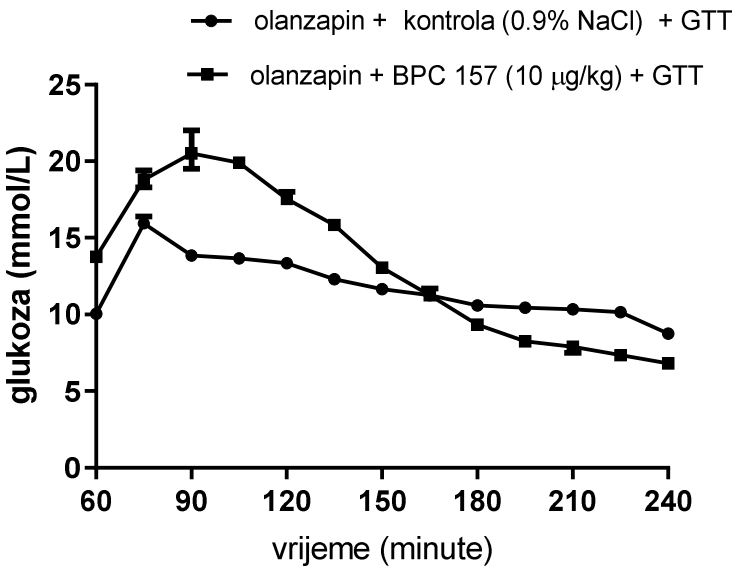
Slika 22. *Glikemija inducirana bolusom glukoze u testu tolerancije glukoze (GTT).*

Prikazana je površina pod krivuljom, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 μg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (0,9% NaCl) dani 5 minuta prije glukoze (1 g/ml/kg i.p.). Procjena je počela 15 minuta nakon davanja bolusa glukoze. Ukupna kumulativna razina glukoze za grupe u tretmanu sabrana je kao "površina pod

krivuljom" (AUC) i predstavljena kao zbirna vrijednost glukoze. Za usporedbu kontrolne skupine (0,9% NaCl) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002

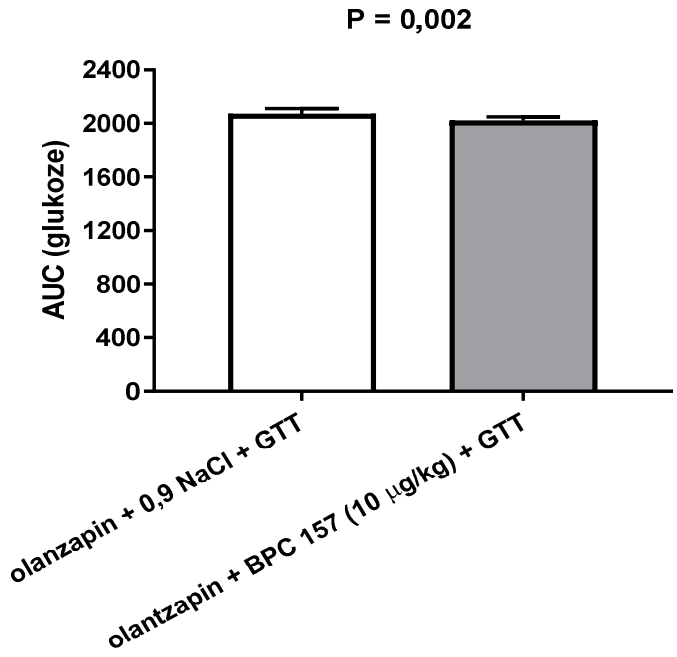
5.7.3. Intolerancija glukoze nakon tretmana s olanzapinom i BPC 157 u GTT-u

Olanzapin je administriran u T0. Nakon injekcije 0,9% NaCl/glukoze u T60, glukoza u krvi je narasla, s maksimumom u T80, potom je počela sporo padati, ali je ostala na povišenoj razini. Za razliku, nakon injekcije BPC 157/glukoze, glukoza u krvi je rasla signifikantno više od kontrole, s vrhom u T90 i platoom do T120, nakon čega je brzo padala i od T180 bila na značajno nižoj razini (*p<0,05). (slike 23 i 24). Benefitni činak jedne doze BPC 157 trajao je sljedeća 4 dana (nije prikazano).



Slika 23. *Vremenski tijek glikemije u testu tolerancije glukoze (GTT) 60 minuta nakon tretmana s olanzapinom.*

Prikazan je vremenski tijek glikemije, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 μg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (0,9% NaCl) i bolus glukoze (1 g/ml/kg i.p.) administrirani su 60 min nakon olanzapina (15 mg/kg i.p.). Procjena je počela 15 minuta nakon davanja bolusa glukoze. Ukupna kumulativna razina glukoze za grupe u tretmanu sabrana je kao "površina pod krivuljom" (AUC) i predstavljena kao zbirna vrijednost glukoze. Za usporedbu kontrolne skupine (fiziološka) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002

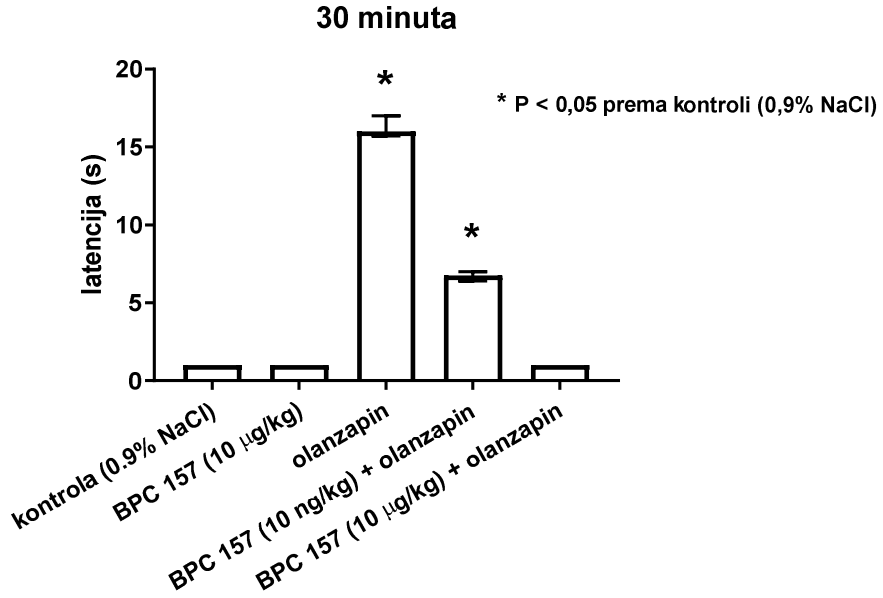


Slika 24. *Glikemija inducirana bolusom glukoze u testu tolerancije glukoze (GTT) 60 minuta nakon teretmana s olanzapinom.*

Prikazana je površina pod krivuljom, srednje vrijednosti i 95-postotni intervali pouzdanosti. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (0,9% NaCl) dani 5 minuta prije glukoze (1 g/ml/kg i.p.). Procjena je počela 15 minuta nakon davanja bolusa glukoze. Ukupna kumulativna razina glukoze za grupe u tretmanu sabrana je kao "površina pod krivuljom" (AUC) i predstavljena kao zbirna vrijednost glukoze. Za usporedbu kontrolne skupine (0,9% NaCl) s tretiranom skupinom (BPC 157) korišten je Mann-Whitney U-test, * P = 0,002

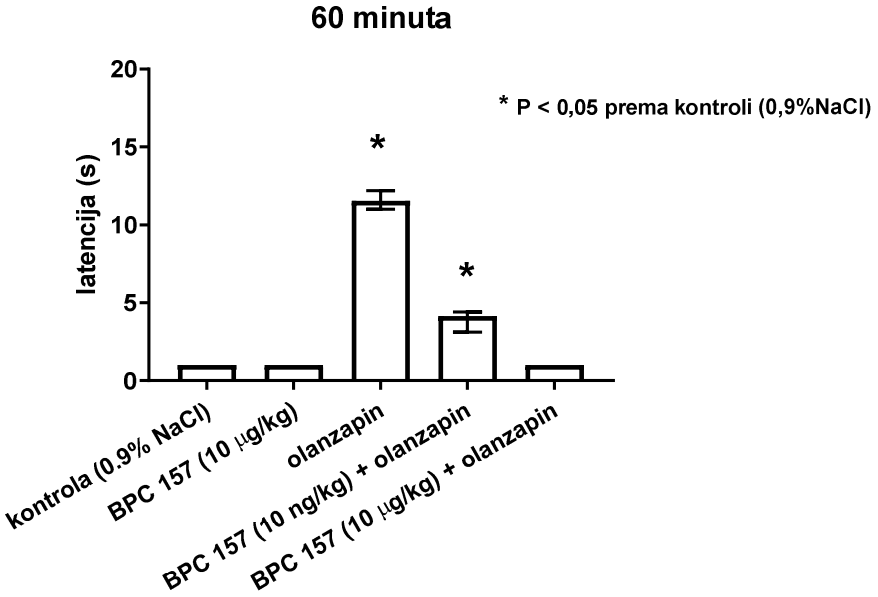
5.7.4. Katalepsija inducirana olanzapinom

BPC 157 je ovisno o dozi značajno smanjio katalepsiju u T30, a štakori iz te skupine su se slobodno kretali i trčali u kavezu u T90 (*p<0,05). (slika 25-28).



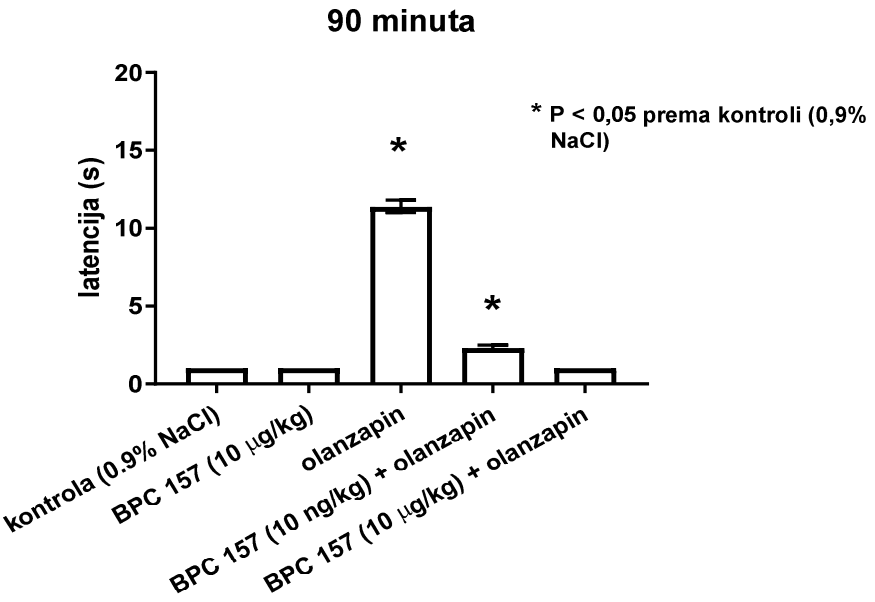
Slika 25. *Rezultati katalepsije izazvane olanzapinom u 30 min.*

Prikazane su vrijednosti latencije izazvane olanzapinom, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), (10 ng), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola) administrirani su 5 min prije olanzapina (15 mg/kg i.p.). Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 30 min tijekom 2 sata. Za usporedbu kontrolne skupine (0.9 % NaCl) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe, * P< 0,05



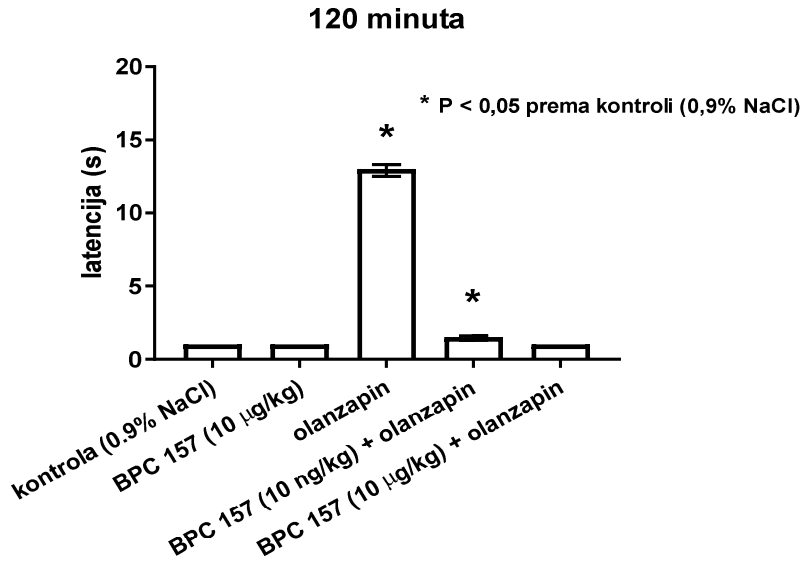
Slika 26. *Rezultati katalepsije izazvane olanzapinom u 60 min.*

Prikazane su vrijednosti latencije izazvane olanzapinom, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), (10 ng), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola) administrirani su 5 min prije olanzapina (15 mg/kg i.p.). Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 30 min tijekom 2 sata. Za usporedbu kontrolne skupine (0.9 % NaCl) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe, * P< 0,05



Slika 27. *Rezultati katalepsije izazvane olanzapinom u 90 min.*

Prikazane su vrijednosti latencije izazvane olanzapinom, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 µg), (10 ng), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola) administrirani su 5 min prije olanzapina (15 mg/kg i.p.). Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 30 min tijekom 2 sata. Za usporedbu kontrolne skupine (0.9 % NaCl) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe, * P< 0,05

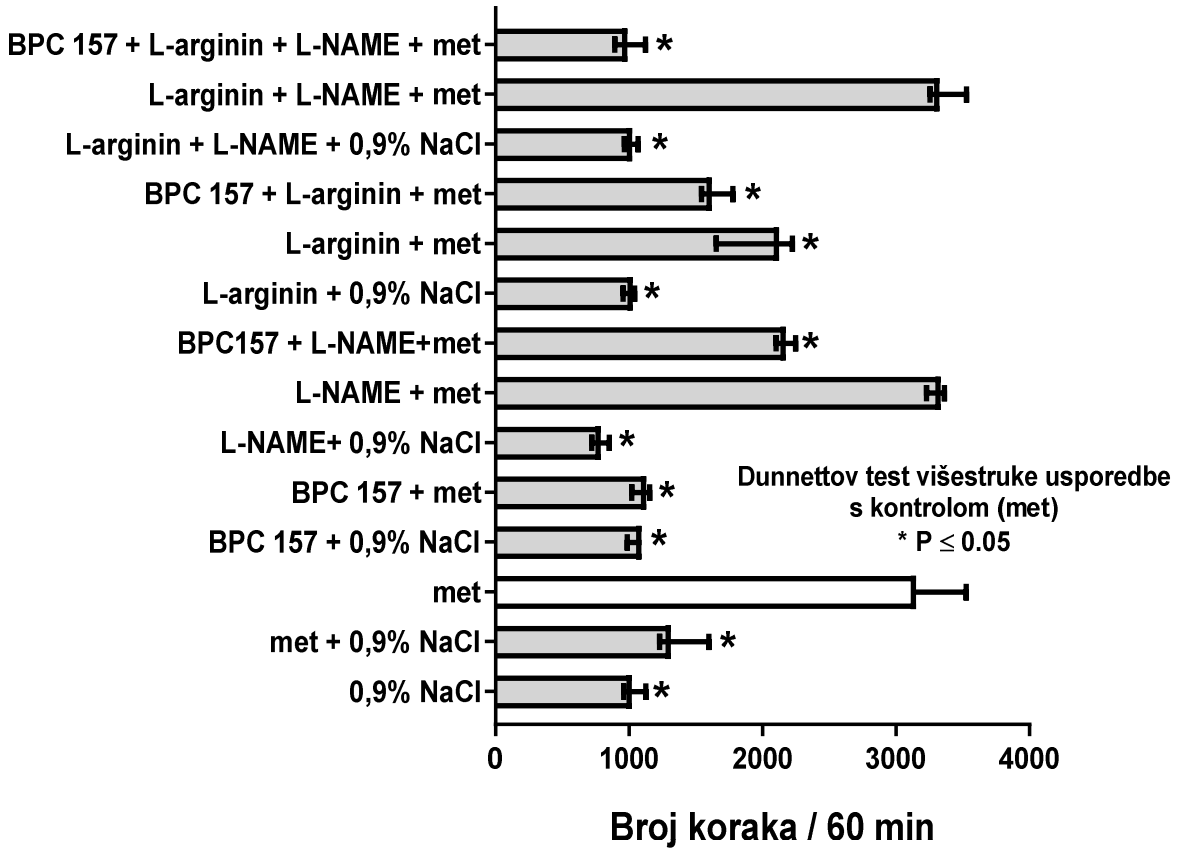


Slika 28. *Rezultati katalepsije izazvane olanzapinom u 120 min.*

Prikazane su vrijednosti latencije izazvane olanzapinom, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Agensi (/kg i.p., BPC 157 (10 μg), (10 ng), fiziološka otopina 5,0 ml/kg (kontrola) administrirani su 5 min prije olanzapina (15 mg/kg i.p.). Latencija spuštanja (sek) mjerena je svakih 30 min tijekom 2 sata. Za usporedbu kontrolne skupine (0.9 % NaCl) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe, * P< 0,05

5.8. Lokomotorna aktivnost nakon senzibilizacije inducirane s metamfetaminom

Preosjetljivost izazvana metamfetaminom prelazi u jače motoričke poremećaje (slika 23). Sam dani, niti jedan od ispitivanih agenasa nije promijenio bazalno ponašanje. Davani s metamfetaminom, u drugom i trećem tjednu, oni pokazuju određene učinke. Primjena BPC 157 snažno djeluje protiv poremećaja izazvanih metamfetaminom. Isto tako, primjena L-arginina rezultira s izrazitim suprotstavljanjem. Suprotno tome, L-NAME nema učinka. Međutim, kombinirana primjena daje karakteristične učinke. L-NAME se suprotstavlja učinku L-arginina u suzbijanju učinka induciranog metamfetaminom (L-NAME + L-arginin). Za razliku od L-arginina, BPC 157 zadržava svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti NOS-blokade (BPC 157 + L-NAME). Isto tako, BPC 157 zadržava svoj suprotstavljajući učinak u prisutnosti prekomjerne stimulacije NO-sustava (BPC 157 + L-arginin). Ilustrativno za odnose između BPC 157-L-arginina, BPC 157 je obnovio antagonizaciju (BPC 157 + L-NAME + L-arginin) kada je ukinuta istodobnom primjenom L-NAME s L-argininom (L-NAME + L -arginin).



Slika 29. *Rezultati lokomotorne senzibilizacije inducirane metamfetaminom.*

Prikazan je broj koraka, srednja vrijednost i intervali pouzdanosti od 95 posto. Shemu davanja agensa vidi u tablici 2 na stranici 39. Za usporedbu kontrolne skupine (met, metamfetamin) s tretiranim skupinama korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Dunnettov test višestruke usporedbe. * $P \leq 0,05$

6. RASPRAVA

6.1. Rasprava o primarnim rezultatima rada

U odgovarajućim modelima štakora usmjerila se pažnja na odnose stabilnog pentadekapeptida BPC 157, (152-159, 190, 336-340) NG-nitro-L-arginin metil ester hidroklorida (L-NAME), inhibitora sintaze dušikovog oksida(NOS) i L-arginina, NOS-supstrata, prema simptomima sličnim shizofreniji. Dušikov oksid (NO) ima ulogu u patofiziologiji shizofrenije (341). Pri tome je intrigantno da se oba NOS-inhibitor (342) i L-arginin (343) primjenjuju u terapiji shizofrenije, kao i u modelima na životinjama koji nalikuju „pozitivnim“ simptomima shizofrenije (npr. primjena amfetamina) (344-347). U praksi, kao što je istaknuto u drugoj NO-studiji (348), takvo neuobičajeno podudaranje znači da dva farmakološki različita mehanizma sa suprotnim učincima na istom signalnom putu proizvode isti fiziološki odgovor. Moguće je da to nije strogo povezano s NO-sustavom (348). Isto tako, ova neobična podudarnost (348) zahtijeva dodatni složeniji pristup koji bi je pobliže objasnio. Sva tri korištena režima, L-NAME (blokada NO-sustava) vs. L-arginin (prekomjerna stimulacija NO-sustava) vs. kombinacija (L-NAME + L-arginin) (imobilizacija NO sustava, kombinirana oba agensa suprotstavljaju se jedan drugom, ukoliko je NO -sustav povezan), sva tri agensa koja smo u skladu s tim koristili u istoj studiji omogućila su cjelovitiju prezentaciju NO sustava. Taj je pristup dosljedno proveden u našim studijama (za pregled vidi, tj. (153, 348).

Međutim, iako je davno predloženo [za pregled, vidi, npr. (198, 349)], nisu korišteni niti u studijama NO-amfetamina (344-347). U principu, ovaj složeniji pristup [za pregled vidi npr. (153, 348)] može pomoći u razjašnjenju tako neobičnog paralelnog djelovanja, pretpostavljenog podudaranja NO agensa koji su negativno ili pozitivno utjecali na NO-sustav (344-347). Naime, kako je pokazano (349), ako su studije NO obično ograničene samo na oslabljenu generaciju NO-a, one će biti manje precizne (153, 348), a time i s drukčijim rezultatima s primjenom NO-agensa (346, 347, 350-353). S druge strane, obično, modeli na životinjama mogu biti korisni za uspostavljanje uzročno-posljedičnih veza potencijalnih antipsihotičkih agensa i „pozitivnih“ simptoma shizofrenije (295).

S tim u vezi, ispitali smo značenje BPC 157 (152-159, 190, 336-340), prvo, na osnovu njegovog suprotstavljajućeg učinka prema različitim akutnim i kroničnim poremećajima izazvanih amfetaminom i neurolepticima (haloperidol), (164, 172, 173) u interakciji s dopaminskim sustavom (339, 340), i drugo, na temelju njegove interakcije s NO-sustavom u raznim modelima i vrstama [za pregled pogledati, npr., (153, 348)]. Naime, analogno njegovom suzbijanju štetnih učinaka izazvanih dopaminskim agensima (stereotipija inducirana amfetaminom i katalepsija

izazvana haloperidolom), (164, 172, 173), BPC 157 suzbija štetne učinke L-NAME, NOS-inhibitora, slično kao NOS-supstrat, L-arginin [za pregled pogledati, npr. (153, 199, 348)]. Vjerojatno, uspostavljanje odnosa BPC 157-NO - sustava u modelima na štakorima koji podsjećaju na "pozitivne" simptome shizofrenije (administracija dopaminskih agensa, amfetamina i apomorfina, (316, 318) MK-801, nekompetitivnog antagonista N-metil-d-aspartata (NMDA) receptora, (354), uključujući kronično davanje metamfetamina za izazivanje preosjetljivosti, (355) može riješiti pitanje spomenutog učinka L-NAME i L-arginina na poremećaje izazvane amfetaminom (344-347). Isto tako, uspostavljanje odnosa BPC 157-NO u katalepsiji izazvanoj neuroleptikom haloperidolom u štakora (172, 330) može biti zanimljivo pod uvjetom da shizofreni bolesnici s ekstrapiramidnim simptomima često imaju teže psihijatrijske simptome (pozitivni simptomi, negativni simptomi, opći psihopatološki simptomi) i simptome poremećaja raspoloženja (356).

Uz to treba naglasiti nekoliko stvari. Pitanje NO - mikroglije - neuroupale - shizofrenije je dobro riješeno (357-363), kao i NO - dopamina - glutamata - bazalnih ganglija - shizofrenije (364-367). U skladu s tim, primjena agonista ili antagonista receptora dopamina mijenja strijatalno istjecanje NO-a (357-363); antipsihotici povećavaju ekspresiju nNOS u strijatumu (75, 368, 369) i iNOS (361, 370-373); razina NO-a može se smanjiti liječenjem s minociklinom, obećavajući novu terapiju u shizofreniji (374, 375). Međutim, kao u slučaju spomenutih studija NO-amfetamina, (344-347), ni u drugim studijama (357, 369-372) nije se koristio predloženi kompleksniji pristup (L-NAME vs. L-arginin vs. kombinacija) (153, 199, 348, 349) kako bi se dobio cjelovit prikaz funkcioniranja i odnosa NO-sustava (npr. kada su NO-specifični, L-NAME i L-arginin redovito slabili ili međusobno antagonizirali svoje učinke (153, 199, 348, 349).

Pokazano je da se BPC 157 (152-159, 190, 336-340) suprotstavlja katalepsiji izazvanoj s L-NAME, kao i odnosi BPC 157, L-NAME, L-arginina i NO-a, u odgovarajućim akutnim i kroničnim modelima koji nalikuju „pozitivnim“ simptomima shizofrenije (344-347, 355). Smatralo se da je to nastavak spomenutog potencijala suprotstavljanja BPC 157 prema poremećajima izazvanim u dopaminskom- (164, 172, 173, 339, 340) i NO-sustavu (153, 348). S tim dokazima, administracijom BPC 157 pokušalo se razriješiti neobično paralelno djelovanje u suprotstavljanju amfetaminu koje mogu pokazati, L-NAME i L-arginin, u modelima na životinjama koji nalikuju „pozitivnim“ simptomima shizofrenije (344-347). Time, uspostavljeni odnos BPC 157-NO sustava (BPC 157 vs. L-NAME vs. L-arginin vs kombinacija) odgovarajuće je korišten u modelima koji nalikuju „pozitivnim“ simptomima shizofrenije, akutnim (344-347) i kroničnim (355), u indukciji preosjetljivosti, (355), ali i u

modelima ekstrapiramidnih simptoma štakora (172, 330), za koje se zna da su povezani s težim psihijatrijskim simptomima (356). Upotreba režima primjene BPC 157 vs. L-NAME vs. L-arginin vs. kombinacija otkriva karakteristično suprotstavljanje ovim učincima (npr. sličnim pozitivnim simptomima). Suprotstavljanje se redovito javlja s BPC 157 i L-argininom (npr. akutni učinci izazvani amfetaminom i apomorfinom, kronični učinci izazvani metamfetaminom, akutni učinci izazvani s MK-801 i haloperidolom) i izuzetno s L-NAME (npr. akutni učinci izazvani amfetaminimom). S tim smo identificirali dva odgovora NO-sustava, "ne odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" (akutni učinci apomorfina, kronični učinci metamfetamina, akutni učinci MK-801 i akutni učinci haloperidola), i "odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin"(akutni učinci izazvani amfetaminom). Kombinacija ova dva različita odgovora je vjerojatna. Najprije, oba odgovora NO sustava reagiraju na BPC 157. Također, BPC 157 se suprotstavlja učinku L-NAME (kao što je to redovito činio u mnogim drugim modelima [pregledno u, npr. (153, 348)], tako i ovdje, BPC 157 se suprotstavio katalepsiji induciranoj s visokom dozom L-NAME (124) i stoga oba NO-odgovora mogu biti posredovana s BPC 157. Naime, u oba slučaja, BPC 157 je učinkovit i u prisutnosti inhibicije NO-sustava (L-NAME → L- NAME + BPC 157), prekomjerne stimulacije NO-sustava (L-arginin → L-arginin + BPC 157) i imobilizacije NO sustava (L-NAME + L-arginin → L-NAME + L-arginin + BPC 157). Prema tome, u pogledu suzbijanja štetnih učinaka, administracija BPC 157 može prevladati i dodatno suzbiti mogući negativni ishod inhibicije NO sustava (antagonizacija korisnog učinka L-arginina). Isto tako, BPC 157 može prevladati i dodatno suzbiti imobilizaciju NO sustava (L-NAME + L-arginin). Inače, pri postojanju štetnih učinaka induciranih akutno s amfetaminom ili apomorfinom i kronično s metamfetaminom, kao i haloperidolom-inducirane katalepsije, L-NAME i L-arginin mogu međusobno antagonizirati odgovore, čineći da lezije ostanu na kontrolnoj razini. Dakle, osiguravajući potencijal za suzbijanje štetnih učinaka kao automatiziranog rezultata, čak i kada je istodobna primjena L-NAME s L-argininom (L-NAME + L-arginin) redovito ukidala suprotstavljanje, potencijal suprotstavljanja ponovno se pojavljuje s BPC 157, dolazi do obnove (BPC 157 + L-NAME + L-arginin), štetni učinci su dodatno antagonizirani. Dakle, unutar ograničenja ovih modela na životinjama vs. prednosti, (295), prezentacija ova dva odgovora, „ne odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin“ *vs.* „odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin“ može biti indikativna za razmatranje štetnih učinaka i njihovih uzroka.

Rezimirajući, čini se da je interakcija BPC 157 / dopaminskog / glutamatnog / NO-sustava dobro utemeljena. Ona podrazumijeva ukupnu motoričku aktivnost (koja odražava lokomotornu aktivnost i stereotipiju), nakon akutne primjene amfetamina i apomorfina i

kronične administracije metamfetamina, posredno i izravno djelujućih dopaminskih agensa, (316, 317, 355), hiperlokomociju, stereotipno njušenje i ataksiju nakon akutne administracije MK-801, nekompetitivnog antagonista NMDA receptora, (319); katalepsiju induciranu neuroleptikom haloperidolom (172, 330) i konačno katalepsiju izazvanu s L-NAME (124).

Što se tiče odnosa BPC 157/dopamina, ovaj ospeg korisnih učinaka može biti vjerojatan, s obzirom na poznato suprotstavljanje BPC 157 akutnom i kroničnom poremećaja izavanog amfetaminom i neurolepticima (haloperidol) (164, 172, 173). Isto tako što se tiče odnosa BPC 157 / NO-sustava, njegova interakcija s NO-sustavom u različitim modelima i vrstama (153, 348) dopušta primijećeni široki raspon suprostavljanja (*vs.* 5 mg/kg L-NAME (akutni učinci inducirani apomorfinom, učinak metamfetamina u kroničnoj primjeni, akutni učinci inducirani s MK-801 i akutna katalepsija izazvana s haloperidom u ovom istraživanju kao i u ostalim modelima (153, 348) i vs. L-NAME 40 mg/kg (L- NAME-inducirana katalepsija)). Isto tako, poznato je da L-arginin inhibira stereotipiju induciranu amfetaminom i katalepsiju induciranu haloperidolom (346). Štoviše, dokazi L-arginina (346) (npr. jednaka antagonizacija učinaka izazvanih amfetaminom, apomorfinom, MK-801 i haloperidolom inducirane katalepsije) ukazuju na određeni mehanizam NO-sustava, koji je uglavnom uključen i u pogledu učinaka L-NAME (L-NAME i L-arginin mogu i ne moraju se suprotstavljati međusobnom odgovoru), nitrergički i/ili nitrergički i dopaminergički. Nitrergička, budući da u modelima „ne odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin“ (učinci izazvani apomorfinom, metamfetaminom, MK-801 (stoga uključujući blokadu NMDA receptora) i katalepsiju izazvanu haloperidolom) L-NAME nema vlastitu aktivnost, ali kad se kombinira, uvijek suzbija učinke L-arginina. Nitrergička i dopaminergička, budući da u modelu „odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin“ (akutni učinci izazvani amfetaminom kao posebna situacija) antagonizacija ide s L-NAME, slično kao i s L-argininom, ali oni se ne suprotstavljaju odgovoru drugoga, što ukazuje na dodatni učinak vezan za dopamin, umjesto njihove međusobne inhibicije (to bi bio učinak vezan na NO), njihov sinergistički učinak na dopamin. Stoga se antagonizacija amfetamina pojavljuje s L-NAME, budući da će za oslobađanje dopamina u sinaptičku pukotinu, specifični učinak amfetamina, trebati nesmetana funkcija NO-sustava a L-NAME sama može izazvati katalepsiju. Napominjemo, ovaj prijedlog je u skladu s dokazima da je ICV injekcija L-NAME smanjila otpuštanje dopamina (376). U skladu s tim, ponašanje uzrokovano amfetaminom u štakora bilo je modulirano NOS inhibitorom (102, 109). Isto tako, u okviru ovih pojmova, "odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" u akutnim učincima induciranih amfetaminom ukazuje da bi se L-arginin mogao natjecati s dopaminom za dopaminske receptore (i time, antagonizirati akutne učinke inducirane amfetaminom i apomorfinom i učinke izazvane

kroničnom administracijom metamfetamina, kao i katalepsiju induciranu haloperidolom). Kombiniranje inhibitornog učinka na oslobađanje dopamina (L-NAME) i nadmetanjem za post-sinaptičke dopaminske receptore (L-arginin) rezultira daljnjom blokadom učinka amfetamina (L-NAME + L-arginin). Važno je da istodobna primjena BPC 157 podržava „odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" protiv akutnih učinaka induciranih amfetaminom u štakora(BPC 157 + L-NAME + L-arginin).

S podudarnim učinkom L-NAME i L-arginina, taj kasniji učinak L-arginina mogao bi biti izraženiji, odgovoran za antagonizaciju izravnog učinka akutnog apomorfina ili haloperidola ili kroničnog metamfetamina na dopaminskim receptorima, slično kao i za antagonizaciju blokade MK-801 NMDA receptora L-argininom koja se ne može postići L-NAME. Međutim, to može biti budući da će (vjerojatno presinaptički učinak) L-NAME u podudarnom učinku L-NAME i L-arginina trebati veće doze kao što je pokazano u deficitu prepoznavanja izazvanog apomorfinom u štakora kada i NO donori i NOS inhibitori mogu obnovi deficit prepoznavanja induciran disfunkcijom dopaminskog sustava (63).

S druge strane, kronični metamfetamin na dopaminskim receptorima ukazuje da se "odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" može prenijeti u "ne odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" kad se pojavi preosjetljivost dopaminskih receptora. Dakle, kronični model s metamfetaminom, zajedno s drugim akutno korištenim modelima, pokazuje da su ti odgovori oboje kratkoročno operativi, slično kao i u produženom razdoblju, te da utječu na akutne i odgođene posljedice. Napomena, pokazalo se da se BPC 157 suprotstavlja razvoju preosjetljivosti dopaminskih receptora u haloperidolsko / amfetaminskom modelu (173).

Rezimirajući, ovi nalazi razlažu da su oba i NOS-inhibitor, L-NAME i NOS-supstrat, L-arginin, primjenjivi u daljnjoj terapiji shizofrenije, (341-343) objašnjavajući učinak L-NAME i/ili L-arginina. Odgovori "ne odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" i "odgovara na L-NAME, odgovara na L-arginin" znače dva različita prikaza NO-putova (učinci inducirani apomorfinom i MK-801, kronična preosjetljivost s metamfetaminom, katalepsija izazvana haloperidolom (suprotan učinak L-arginina-L-NAME; antagonizacija) *vs.* učinci inducirani amfetaminom (paralelni učinak L-arginina-L-NAME; sinergizam)). Doista, L-NAME i L-arginin mogu imati i paralelni učinak (191-194, 348). Uz učinak amfetamina, ovaj paralelizam javlja se i s prilično karakterističnim modelima (mioza, atropinska midrijaza, (348) ogromna doza magnezija, (194) ishemijsko / reperfuzijski kolitis, (191) kongestivne lezije dvanaesnika, (192) perforacija cekuma, (193) i interakcije L-NAME i/ili L-arginina s drugim sustavima (npr. acetilkolinski) (348). U svim tim eksperimentima, kao i u ovoj studiji, konzistentni blagotvoran ishod s istodobnom primjenom BPC 157 pokazuje da je terapijski

učinak BPC 157 redovito prisutan u BPC 157 + L-NAME + L- arginin životinja (191-194, 348). To je sukladno pokazano i u drugim studijama (197, 377-379). Isto tako, ovi nalazi razlažu prethodne korisne učinke BPC 157. To su posebno oni prema štetnim učincima izazvanim dopaminom (amfetamin (164, 173) i neurolepticima (167, 170-172, 380, 381). Učinci prema serotoninu (165-167) (posebno, oslobađanje serotonina u specifičnom nigrostrijatalnom području mozgu (166, 339), pružajući implikaciju anatomske povezanosti dopaminskih neurona i iinterneurona koji sadrže NOS-a (npr. nitrergičnih) u strijatumu štakora), (382, 383) i NO-sustava; (153, 191-194, 348) (napomena, BPC 157 može inducirati NO-ispuštanje (199), čak i u uvjetima kada L-arginin ne djeluje (384).

S obzirom na opće razmatranje NO-sustava / shizofrenije (385), a posebno učinka BPC 157, još je potrebno riješiti nekoliko važnih stvari (npr. 40 mg/kg, L- NAME inhibira nNOS, ili eNOS, ili iNOS, ili sve). S druge strane, nedavno je demonstrirano da BPC 157 može obnoviti deficit prepoznavanja skupa s terapijskim učinkom u štakora nakon moždanog udara (386). U roku od 24 sata i 72 sata od reperfuzije, BPC 157 se suprotstavio obome ranom i odloženom oštećenju neurona hipokampusa, postižući potpuni funkcionalni oporavak (Morrisov test vodenog labirinta, test hodanja po nagnutoj gredi, test bočnog guranja). Studije ekspresije mRNA u 1 h i 24 h pokazale su snažno povišenu (*Egr1, Akt1, Kras, Src, Foxo, Srf, Vegfr2, Nos3, Nos1*) i sniženu (*Nos2, Nfkb*) ekspresiju gena (*Mapk1* nije bio aktiviran), kao način kako BPC 157 može djelovati (386).

Dakle, ova je studija pokrenula nekoliko pitanja i neke stavke koje bi trebalo dodatno razjasniti u narednim studijama. Ipak, dokazi da se pentadekapeptid BPC 157 (152-159, 190, 336-340) suprotstavlja katalepsiji induciranoj s L-NAME, kao i odnos BPC 157, L-NAME, L-arginina, NO, u odgovarajućim akutnim i kroničnim modelima na štakorima koji nalikuju „pozitivnim“ simptomima shizofrenije (344-347, 355), odražava važnost modela na životinjama za uspostavljanje uzročno-posljedičnih veza potencijalnog antipsihotičkog agensa (295). Stoga, unatoč njihovim mogućim ograničenjima, (295) mehanizam BPC 157, interakcija i učinak BPC 157 / dopamina / glutamata / NO i njegov sigurni klinički profil (152-159, 190, 336-341) mogu se povezati s osnovnom funkcijom koja utječe na simptome slične shizofreniji.

Do sada nije bilo podataka o potencijalnoj djelotvornosti BPC 157 u modelima na životinjama koji nalikuju negativnim simptomima shizofrenije. Prefrontalna kora (PFC) i strijatum dio su kortiko-strijatalno-talamičke petlje (387) i postoje snažni dokazi da manipulacija živčanim funkcijama u PFC-u i strijatumu utječe slično na kognitivni, motorički i nagradni proces. Utvrđeno je da izloženost ketaminu izaziva anhedoniju u modelima na životinjama, zajedno s mnogim drugim afektivnim, kognitivnim i bihevioralnim simptomima.

Heterogenost ovih simptoma predstavlja mnoštvo kortikolimbičnih struktura uključenih u regulaciju raspoloženja na koje negativno utječe poremećaj (388). Iako su tradicionalni antipsihotici pokazali određenu korist u liječenju pozitivnih simptoma shizofrenije, trenutni tretmani imaju ograničenu sposobnost ublažavanja klastera negativnih i kognitivnih simptoma (389). Postojeći antipsihotici učinkovito poboljšavaju psihotične simptome shizofrenije, ali blokada receptora dopamina D2 s tim lijekovima može u stvari pogoršati oštećenje motivacije. Dakle, istinski deficiti nagrade mogu proizaći iz neuropatologije shizofrenije i od nuspojava trenutno korištenih antipsihotika s velikim afinitetom za dopaminske D2 receptore (278).

Funkcija NO u hipotalamusu u velikoj je mjeri uključena u proces učenja i stvaranje memorije (390). NO se sintetizira u mozgu na zahtjev kao u kognitivnom stanju za koje je potrebna ta aktivnost. Neuroni sintetiziraju NO kao odgovor na aktivaciju receptora N-metil-D-aspartata (NMDA) ekscitatornom aminokiselinom glutamat. Utvrđeno je da antagonisti NMDA receptora, dizociplin (MK-801) i AP5 inhibiraju sintezu NO u mozgu (391). Dopamin i njegovi agonisti poboljšali su kognitivno ponašanje i spriječili L-NAME da ošteti proces učenja i pamćenja u štakora (392). Utvrđeno je da je oštećenje memorije s L-NAME popraćeno smanjenjem pretvorbe 5-HT u njegov metabolit, 5-hidroksiindol octenu kiselinu u hipokampusu štakora (393).

Rezultati studije NORT u skladu su s prethodnim studijama u kojima je davanje ketamina nakon treninga remetilo izvođenje štakora u testovima prepoznavanja predmeta (110, 58, 394). Jedna injekcija BPC 157 i L-arginina nakon treninga umanjila je nedostatke izvođenja izazvane ketaminom u ovoj paradigmi memorije. L-NAME (5 mg/kg) i L-arginin (100 mg/kg) u prisutnosti L-NAME nisu mogli obnoviti deficit izazvan ketaminom. BPC 157 u kombinaciji s L-NAME ili s L-NAME/L-argininom je oslabio taj deficit. Ovi podaci pokazuju da je BPC 157 poboljšao kognitivni deficit induciran inhibitorom NMDA receptora, čak i u prisutnosti L-NAME.

Inače, prepoznavanje je vrsta memorije koja je teško ugrožena u bolesnika sa shizofrenijom i Alzheimerovom bolešću (265, 396).

Ovi rezultati pokazuju da je BPC 157 sposoban suzbiti oštećenja pamćenja u NMDA modelu i predložena je funkcionalna interakcija između NO i glutamatergičnog, odnosno dopaminergičkog sustava (395). Rezultati studije slažu se i proširuju gornja otkrića te izvještavaju da BPC 157 može poništiti deficit prepoznavanja izazvan disfunkcijom NMDA sustava. Moglo bi se nagađati da se pojačavanje NO aktivnosti može suprotstaviti inhibitornim učincima aktivacije D2 receptora na D1-facilitaciju NOS aktivnosti. Stoga, blagotvorni učinci

stimulacije ili inhibicije signaliziranja NO na kognitivne deficite mogu biti posljedica njegovog djelovanja na dva funkcionalno suprotna sustava.

U tom kontekstu, odavno je prepoznato da je anksiozni poremećaj istaknuto obilježje shizofrenije (za pregled vidi, 397). Test otvorenog polja standardni je neofobični test anksioznosti. U ovom postupku glodavci prirodno nastoje izbjegavati otvorene prostore. Dakle, broj ulazaka i vrijeme provedeno u središnjem području arene u otvorenom polju mjera je stanja anksioznosti (269).

Agensi koji utječu na opću motoričku funkciju mogu utjecati na izvođenje u testovima anksioznosti zbog promjena u motoričkoj aktivnosti koje nisu povezane s bilo kakvim anksiogenim ili anksiolitičkim učincima spoja. Stoga je procjena motoričke aktivnosti glodavaca nakon primjene ispitivanog spoja potrebna kako bi se procijenila mogućnost nespecifičnog motoričkog učinka koji može ometati interpretaciju rezultata testa anksioznosti.

U ovom pokusu ketamin (30,0 mg/kg) je izazvao anksiolitički učinak u testu otvorenog polja, što je dokazano značajnim povećanjem broja ulaza u središnje područje arene otvorenog polja. Uz to, ova doza ketamina značajno je povećala epizode uspinjanja, ukazujući na povećanje istraživačkog ponašanja. U pokusima su utvrđene lezije motoričkog ponašanja izazvane s ketaminom i L-NAME u kombinaciji, (nepokretnost i nestabilnost popraćene s oštećenim rotacijskim pokretima (ataksijom)). BPC 157 je suzbio ataksiju, ali ne i nepokretnost induciranu kombinacijom L-NAME-ketamin.

Predtretman s L-NAME promijenio je lokomotornu aktivnost induciranu ketaminom samim, što ukazuje na veću ulogu NO-a u upravljanju pokreta udova (398). S obzirom na ove rezultate predlažemo da NO može modulirati motoričko ponašanje, vjerojatno interferirajući sa dopaminergičkom, serotonergičkom, i kolinergičkom neurotransmisijom u strijatumu i pruža dokaze o zaštitnoj ulozi NO (124). Novija literatura nudi proturječne spoznaje o ulozi NO-a u anksioznim poremećajima (399-401). Najočitiji nalaz koji je proizašao iz prethodnih studija jest da hipokampus ne samo da pridonosi brojnim reakcijama u ponašanju, poput straha i tjeskobe, već hipokampus sadrži i mnogo NO-neurona (402). Značajno je da su prethodna istraživanja pokazala da NOS inhibitori (403) i L-arginin (404) također mogu utjecati na lokomotornu aktivnost štakora. NO je dobro poznati neurotransmiter i neuromodulator. U raznim dijelovima SŽS-a utvrđena je značajna tvorba NO-a (405). NO je uključen u regulaciju ekscitabilnosti i izbijanja, u dugotrajnom potenciranju i dugotrajnoj depresiji, kao i u procesima pamćenja (406). Uz to, pokazalo se da je NO uključen u modulaciju motoričke aktivnosti i ponašanja povezanih s tjeskobom, no u literaturi se mogu naći značajne varijabilnosti njegove uloge (403, 407-409). Međutim, postoje proturječja u vezi s anksiolitičkim ili anksiogenim

učinkom NO-a (399, 410-413). Spojevi poput BPC 157 koji kombiniraju interakcije funkcije 5-HT, DA i GABA receptora s pojačavanjem funkcije NO, a time utječu na višestruke čimbenike koji su upleteni u patofiziologiju shizofrenije, mogu imati veću učinkovitost nakon sustavnog inzulta koji pobliže modelira poremećaje u shizofreniji (414). Iskoristivši kombinaciju paradigmi testa svjetlost/tama i testa šoka/skrivanja, i diazepam i BPC 157 pokazali su dvosmjerni učinak, ali aktivnost BPC 157 bila je posebna i različita od diazepama, npr. smanjeno skrivanje, s istim brojem primljenih šokova (šok/skrivanje) i povećana aktivnost u tamnoj zoni (test svjetla mraka) (168). U studiji inducirane tolerancije/odvikavanja od diazepama (169), u kojoj je apliciran BPC 157 istovremeno s diazepamom, nije pokazan je razvoj tolerancije, dok je rezidualna antikonvulzivna aktivnost bila produljena, a fizička ovisnost/ispuštanje je bilo odgođeno u diazepam + BPC 157 kronično tretiranih miševa. Dakle, ovi rezultati pružaju dokaze da BPC 157 djeluje favorizirajući homeostazu GABAergičkog sustava, kao i regulacijom GABAergičke neurotransmisije mehanizamom djelovanja, barem djelomično, različitog od onoga koji je uključen u razvoj tolerancije i ispuštanja diazepama (175, 415).

Pokazujući antidepresivni učinak, BPC 157 također pokazuje potencijalnu učinkovitost prema negativnim simptomima shizofrenije (167). Razni antidepresivi djeluju antiulkusno i pokazalo se da na depresivne poremećaje može učinkovito utjecati primarno antiulkusno sredstvo s cito/organoprotektivnim djelovanjem, poput BPC 157 (167). U testu prisilnog plivanja smanjenje vremena nepokretnosti u BPC 157 tretiranih štakora odgovara aktivnosti viđenoj kod klasičnih antidepresiva poput imipramina ili nialamida, dok je u kroničnom nepredvidivom stresu pogoršanje eksperimentalnih uvjeta utjecalo na učinke konvencionalnih antidepresiva, dok je učinkovitost BPC 157 bila kontinuirano prisutna (167). U našem pokusu pokazan je anksiolitički učinak koji vrši BPC 157. U tom kontekstu, važno je naglasiti da male promjene u lokalnoj koncentraciji NO i vrijeme primjene mogu biti ključni čimbenik u određivanju njegovog biološkog djelovanja, jer se njegovi učinci mogu razlikovati ovisno o čimbenicima kao što su sastav izvanstanične tekućine i funkcionalno stanje ciljnih neurona (79). Nadalje, trebalo bi razmotriti i dvofazno djelovanje (bilo ekscitacijsko ili inhibitorno) koje NO vrši na oslobađanje različitih neurotransmitera uključenih u anksioznost, poput GABA i serotonina (406). Dakle, interferencija posredovana NO-om s GABA ili neurotransmisijom serotonina također može biti uključena u očigledno neskladne rezultate u vezi s učincima spojeva povezanih s NO-om na modele anksioznosti (416). Zanimljivo je da je inhibicija NOS-a, koja smanjuje cGMP-signalizaciju, umanjila učinke na ponašanje

benzodiazepinskogklordiazepoksida (417). Sve u svemu, ovi podaci predlažu ulogu NO-cGMP signalizacije u anksioznosti.

Anhedonija, važna komponenta simptoma depresije, u štakora se može procijeniti gubitkom davanja prednosti zaslađenoj vodi u odnosu na uobičajenu vodu (418). U shizofreniji je anhedonija dio mješavine negativnih simptoma i simptoma vezanih uz raspoloženje (274). Glodavci koji pokazuju osobine anhedonije inducirane farmakološkim manipulacijama pokazuju manje zanimanje za vodu sa saharozom, a ocjena preferencije je manja od 65% (275), ili jednostavno smanjuju količinu konzumirane otopine saharoze. Prethodna otkrića ukazuju na to da je konzumacijski hedonički kapacitet ostao netaknut koristeći se režimima tretmana s PCP-om (213, 277, 419). Korištenje ovog postupka pri modeliranju negativnih simptoma trebalo bi se stoga ograničiti na negativnu kontrolu, korisnu u osiguravanju da korišteno inducirajuće stanje ne narušava konzumirajuću hedoničku reakciju (420). Deficit centralne, subkortikalne dopaminske (DA) signalizacije može biti temelj težine negativnih simptoma, posebno anhedonije, u zdravih osoba i u shizofreniji (421). Ova bi se otkrića mogla objasniti antagonističkim djelovanjem na dopaminergički sustav, jer je dokazano da antagonizam D2-receptora smanjuje sklonost saharozi (422). Nadalje, čini se da je sama anhedonija složeni simptom, koji se sastoji od najmanje dvije dimenzije (tj. motivacijsko/apetitivne i konzumatorne) (423). Te dimenzije podržane su od visoko integrirane mreže neuronskih supstrata (424). Ostale moždane strukture utječu na nagradu mijenjajući otpuštanje neurotransmitera i osjetljivost na dopamin u ovom mezolimbičkom putu. Stoga oštećenja u višestrukim strukturama međusobno povezanim različitim neurotransmiterima (npr. GABA, glutamat i acetilkolin) mogu rezultirati simptomima anhedonije. Za razliku od funkcija odlučivanja i motivacije, čisto konzumirajuće hedoničke funkcije uglavnom ovise o endogenim opioidnim neuropeptidima koji djeluju u ljusci *nucleus accumbensa* i ventralnom palidumu, dvama "hedoničkim žarištima" koja određuju subjektivni užitak (425). Opioidna signalizacija u amigdalima također doprinosi motivaciji za nagradom, posebno sklonosti konzumaciji slatke otopine nad vodom, što se često koristi u utvrđivanju konzumacijskog hedoničkog tonusa u studijama na životinjama (426).

Interakcija između dopaminskog i opioidnog sustava prikazana je u testu analgezije. BPC 157 se suprotstavio haloperidolom induciranom pojačavanju antinociceptivnog djelovanja morfija, ukazujući da BPC djeluje uglavnom kroz središnji dopaminergički sustav (170). BPC 157 vjerojatno utječe na funkcionalnu povezanost, funkciju neurotransmitera i strukturnu i mikrostrukturnu cjelovitost mezolimbičnog i mezokortikalnog dopaminergičkog kruga nagrađivanja. Ometanje neurotransmisije posredovane NO-om izazvalo je značajne i složene

motoričke i emocionalne učinke. Povišeni subkortikalni dopaminergički signalni kapacitet povezan je s manjom težinom negativnih simptoma. Sve skupa, ovi nalazi sugeriraju potencijalni antidepresivni i anksiolitički učinak BPC 157, koji može biti povezan s modulacijom dopaminergičnog sustava.

Subkronični tretman ketaminom značajno je skratio vrijeme provedeno u socijalnoj interakciji i razinu pokretljivosti štakora, u skladu s prethodnim nalazima (279-281). Ova otkrića sugeriraju da ketamin može izazvati promjene u ponašanju štakora koje mogu odražavati socijalni deficit u shizofreniji. Ti učinci ketamina u testu socijalne interakcije (SIT) dobro se podudaraju s kliničkim opažanjima da NMDA antagonisti induciraju određene aspekte negativnih simptoma shizofrenije, što nadalje sugerira da bi smanjenje socijalne interakcije u štakora uzrokovano ketaminom moglo predstavljati neke aspekte negativnih simptoma shizofrenije (279). Pokazano je da primjena BPC 157 (10 μg/kg, i.p.) i L-NAME (5 mg/kg, i.p.) ublažava socijalni poremećaj uzrokovan s ketaminom. Međutim, smanjena motorička aktivnost inducirana s L-NAME–ne interferira s njenim blagotvornim djelovanjem na deficit socijalne interakcije. Suprotno, učinak BPC 157 na pokretljivost štakora ukazuje na mogućnost da bi njegov učinak na socijalnu interakciju mogao barem dijelom biti posljedica povećane motoričke aktivnosti. Primjena L-arginina (100 mg/kg, i.p.) i njegovih kombinacija s BPC 157 i/ili L-NAME smanjila je ili blokirala socijalnu interakciju i pokretljivost štakora (paralelni učinci L-NAME i L-argininina, pojedinačno i u kombinaciji, blokiraju čak i učinak BPC 157). Ukratko, ova otkrića sugeriraju da učinci L-NAME na socijalno ponašanje štakora u SIT-u nisu povezani s promjenom motoričke aktivnosti, dok su učinci BPC 157 mogli biti povezani s promjenom motoričke aktivnosti.

Mehanizam kojim ketamin proizvodi svoje psihotomimetičke učinke barem je djelomično pripisan blokadi NMDA receptora smještenih na GABA interneuronima, što izaziva dezinhibiciju živčane aktivnosti u limbičkim strukturama (427). Ovo dezinhibirajuće djelovanje potiče neuronsku aktivnost i uzrokuje prekomjerno oslobađanje glutamata i dopamina (DA) u prefrontalnoj kori i limbičkim regijama (427, 428).

U ispitivanju intolerancije glukoze u štakora zapaženi su interesantni učinci. Pokazano da BPC 157 signifikantno smanjuje hiperglikemiju induciranu olanzapinom i signifikantno smanjuje glikemiju nakon opterećenja glukozom u testu tolerancije glukoze (GTT). Zatim, administriran 60 minuta nakon olanzapina, BPC 157 kratkotrajno (kroz 90 minuta) signifikantno povećava glikemiju u GTT-u, ali nakon toga pokazuje izraziti inzulotropni učinak i snižava razinu glikemije na signifikantno nižu razinu od kontrolne (učinak jedne doze BPC 157 trajao je 4

dana). Osim toga BPC 157 je istovremeno suzbio katalepsiju i nespecifične promjene ST-T segmenta u EKG-u inducirane olanzapinom u štakora (429, 430).

Ranije je pokazano, da nakon izloženosti prekomjernoj dozi inzulina, BPC 157 smanjuje pojavu ulkusa želuca, konvulzije, leziju mozga, hepatomegaliju, masnu jetru, razgradnju jetrenog glikogena, duboku hipoglikemiju i kalcifikaciju u štakora (183). Na osnovu dobivenih rezultata, pokazano je da BPC 157 porijeklom iz gastrointestinalnog trakta (GIT) posreduje homeostazu glukoze svojim učincima na otočiće gušterače, SŽS i gastrointestinalni trakt.

Zanimljivo je da je Exendin-4 (Ex-4) agonist receptora za glukagonu sličan peptid-1 (GLP-1R) u akutnoj primjeni također paradoksalno povećao razinu glukoze u krvi štakora (431). Taj učinak je bio neovisan o insulinotropnom efektu Ex-4 i njegovom učinku na aktivaciju osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda i mogao ga je blokirati antagonist GLP-1R. Akutnu hiperglikemiju induciranu Ex-4 blokirali su heksametonij, gvanetidin i nadbubrežna medulektomija, što ukazuje da je taj učinak bio posredovan aktivacijom simpatičkog živčanog sustava (431). Za razliku od hiperglikemije proizvedene s Ex-4 i koja je trajala danima, hiperglikemijski učinak BPC bio je kratkotrajan. Poznato je da neurotransmiteri poput noradrenalina inhibiraju izlučivanje inzulina kako bi povećali dostupnost glukoze za vrijeme stresa (432). Ova otkrića ukazuju da bi u štakora BPC 157 mogao aktivirati odgovor simpatičkog živčanog koji zapravo povećava razinu glukoze u krvi.

Nakon jednokratne administracije olanzapina 15 mg/kg i.p., štakori su nakon 45 dana žrtvovani i njihove gušterače su patohistološki analizirane. U patohistološkim preparatima pokazana je hiperplazija Langerhansovih otočića u štakora kojima je apliciran olanzapin, dok to nije bio slučaj kada su štakori uz olanzapin dobili i BPC 157 (opažanje: dr. Anita Škrtić).

Izvanredna sposobnost otočića gušterače da reagiraju na različite metaboličke promjene povećanjem broja β-stanica unutar otočića i pojačanom proizvodnjom inzulina, omogućuje kontrolu razine glukoze u krvi tijekom mnogih diskretnih fizioloških i patofizioloških scenarija (433). Bez obzira na primarnu patologiju, inzulinsku rezistenciju karakterizira smanjena sposobnost inzulina da: a) smanji proizvodnju glukoze u jetri i b) stimulira unos glukoze u skeletne mišiće i masno tkivo (vidi ref. (434-436). Budući da glukoza služi prirodnom mitogenu za replikaciju β-stanica (437, 438), rana hiperglikemijska epizoda, koju mogu izazvati psihotropni lijekovi (439), vjerojatno podržava povećanje broja β-stanica, a time i cjelokupno širenje otočića. Štoviše, akutna izloženost klozapinu na izoliranim mišjim otočićima pojačava oslobađanje inzulina i glukagona. Ovaj sekretorni odgovor Langehansovih otočića pokazuje jasno odstupanje od uobičajene fiziologije otočića gdje povišena sekrecija inzulina normalno potiskuje oslobađanje glukagona (440). Osim toga, izloženost izoliranih otočića gušterače

štakora kroz 7 dana klozapinu smanjila je odgovor podražaja-sekrecije potrebne za oslobađanje inzulina (441).

Dobivene rezultate treba razmotriti u širem kontekstu, posebice u skladu s pregledom tri recentne demonstracije koje potvrđuju važnost rezultata koji su prethodno opisani (442).

6.2. BPC 157 i SŽS

6.2.1. Uvod

Pleiotropni blagotvorni učinci stabilnog želučanog pentadekapeptida BPC 157 zabilježeni su u nekoliko organskih sustava (152-154, 157, 186, 190, 336, 337-340, 443, 444) (za ilustraciju; tablica 2) (442). BPC 157 je nativni želučani pentadekapeptid koji nije toksičan i ima duboko citoprotektivno djelovanje; korišten je u pokusima s ulceroznim kolitisom i multiplom sklerozom (152-154, 157, 186, 190, 336-340, 443, 444). U ljudskom želučanom soku BPC 157 je stabilan više od 24 sata (445), te stoga ima dobru oralnu bioraspoloživost (uvijek se daje sam) i blagotvorno djeluje na čitav gastrointestinalni trakt (152, 186, 190, 336-338, 443, 444). Nadalje, nema potrebe za nosačima; ovo je važna razlika od ostalih standardnih peptida, koji funkcionalno ovise o dodatku nosača (190) ili se inače brzo uništavaju u ljudskom želučanom soku (445). Slijedom toga, sugerira se da stabilni BPC 157 bude posrednik Robertove citoprotekcije, koja održava integritet gastrointestinalne sluznice (152, 186, 190, 336-338, 443, 444). Predlažemo da doprinos BPC 157 Robertovoj citoprotekciji - to jest sposobnost suzbijanja temeljnih želučanih lezija izazvanih alkoholom, što je Robert nazvao citoprotekcijom - i sposobnost suzbijanja lezija koje proizlaze iz izravnog štetnog kontakta štetnog agensa sa stanicom predstavljaju perifernu vezu između osi crijeva i mozga (340).

Tablica 2. *Ilustracija pleiotropnih blagotvornih učinaka terapije BPC 157, u sažetku BPC 157 studija teških encefalopatija koje pogađaju različita područja mozga (442)*

Studija	**Štetni postupak**	**Tretmani s BPC 157**	**Procijenjeni ozlijeđeni ciljevi, na koje je terapija s BPC 157 povoljno utjecala**
Ilic i sur.(2011a) *Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions.* Life Sci 88:535-542	Diklofenak (12.5 mg/kg i.p., jednom dnevnokroz 3 dana) kod štakora.	BPC 157 (10 μg/kg, 10 ng/kg) je bio snažno učinkovit tijekom cijelog eksperimenta kada je apliciran (i) i.p. neposredno nakon diklofenaka ili (ii) peroralno u vodi za piće (0.16 μg/mL, 0.16 ng/mL).	*Gastrointestinalne lezije* Teške lezije želuca i crijeva *Lezije jetre* Izražena nekroza parenhima, opsežna mikrovezikularnasteatoza i sinusoidalna dilatacija; povećani serumska vrijednost bilirubina, aspartat transaminaze (AST), alanin transaminaze (ALT), povećana težina jetre *Lezije mozga* Dugotrajna sedacija, /besvjesno stanje, edem mozga posebno lociran u kori velikog mozga i cerebelumu, više u bijeloj nego sivoj tvari, oštećeni crveni neuroni, posebno u kori mozga i jezgrama malog mozga, Purkinjeovim stanicama i manje uobičajeno u neuronima hipokampusa.
Ilic i sur. (2010) *High hepatotoxic dose of paracetamol produces Generalized convulsions and brain damage in rats. A counteraction with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736).* J Physiol Pharmacol 61:241-50.	Prekomjerna doza paracetamola (5 g/kg i.p.) kod štakora	BPC 157 terapija (10 μg, 10 ng, 10 pg/kg, i.p. ili intragastrično) bila je učinkovita (raspon mikrog-ng) protiv toksičnosti paracetamola, dan rano (BPC 157 neposredno nakon paracetamola, profilaktički) ili uznapredovalom stadiju (BPC 157 3	*Lezije jetre* Povećane vrijednosti ALT, AST i amonijaka u serumu prethode leziji jetre, hepatomegalija *Lezije mozga* Neuroni ozbiljno oštećeni u nekoliko područja mozga, značajna šteta postala je očita, kada je praćena generaliziranim grčevima. Edem je već bio prisutan 25 minuta nakon primjene paracetamola u

		h nakon paracetamola, terapijski).	vrijeme inicijacije generaliziranih konvulzija.
Ilic i sur. (2009) *Over-dose insulin and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Attenuated gastric ulcers, seizures, brain lesions,hepatomegaly, fatty liver, breakdown of liver glycogen, profound hypoglycemia and calcification in rats.* J Physio lPhar macol 60 Suppl 7:107-114.	Prekomjerna doza inzulina (250 IU/kg i.p.) kod štakora	BPC 157 (10 µg/kg) dan (i) i.p. ili (ii) intragastrično neposredno nakon insulina.	*Lezije jetre* Hepatomegalija, masna jetra, povišene serumske vrijednosti AST, ALT, amilaze, idefekt glikogena jetri s dubokom hipoglikemijom i razvojem kalcifikacija.Naslage kalcija bile su prisutne u stijenkama krvnih žila, hepatocitima koji okružuju krvne žile, a ponekad čak i u parenhimu jetre, uglavnom jednako linearno, a povremeno i kao zrnaste nakupine. *Lezije mozga* Konvulzije (na kraju fatalne), ozbiljno oštećeni neuroni u kori velikog mozga i hipokampusu
Drmic i sur.(2017) *Celecoxib-induced gastrointestinal, liver and brain lesions in rats, counteraction by BPC 157 or L-arginine, aggravation by L-NAME.* World J Gastroenterol 23:5304-5312.	Celekoksib (1 g/kg T.T. ip) kod štakora	BPC 157 (poznato da inhibira ove lezije, 10 µg/kg, 10 ng/kg, ili 1 ng/kg ip) i L-arginin (100 mg/kg ip), kao i NOS blokada (L-NAME) (5 mg/kg ip) samostalno i/ili kombinirano odmah nakon celekoksiba.	*Gastrointestinalne lezije* Teške lezije želuca *Lezije jetre* Upadljiva steatoza, zkongestija i nekroza u 24 sata i u 48 sati, zajedno s povećanim vrijednostima enzima u serumu. *Lezije mozga* Edem mozga obično je odsutan, iako su oštećeni (balonizirani) crveni neuroni bili izraženi, posebno u kori velikog mozga i u Purkinjeovim stanicama.
Ilic i sur.(2011b) *Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly,*	Kronična administracija ibuprofena	BPC 157 (10 µg, 10 ng/kg) inhibira patologiju viđenu s ibuprofenom (i)	*Gastrointestinalne lezije* Izrazito teške gastrične lezije

gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats. Eur J Pharmacol 667:322-329.	(0.4 g/kg i.p., jednom dnevno kroz 4 tjedna)	kada se daje i.p., odmah nakon ibuprofena dnevno ili (ii) kada se daje u vodi za piće (0,16 μg, 0,16 ng/ml).	*Lezije jetre* Hepatomegalija, povećan serumske vrijednosti AST i ALT vrijednosti i gubitak tjelesne težine. *Lezije mozga* Produljena sedacija / besvjesno stanje Konkretno, toksičnost ibuprofena bila je za mozak edem, posebno cerebeluma, pri čemu je bijela tvar pogođenija nego siva tvar.Uz to, oštećeni i crveni neuroni, u odsustvu protuupalne reakcije opaženi, osobito u moždanoj kori i jezgrama malog mozga, ali su također bili prisutni, iako u manjoj mjeri opseg u hipokampusu, zupčastoj jezgri i Purkinjeove im stanicama.
Lojo i sur.(2016) *Effects of diclofenac, L-NAME, L-arginine, And pentadecapeptide BPC 157 on gastrointestinal, liver, and brain lesions, failed anastomosis, and intestinal adaptation deteriorationin 24 hour-short-bowel rats.* PLoS One 11:e0162590.	Odmah nakon stvaranja anastomoze, štakori s kratkim crijevom bili neliječeni ili je i.p administriran diklofenak (12 mg / kg)	BPC 157 (10 μg/kg ili 10 ng/kg), L-NAME, 5 mg/kg, L-arginin (100 mg/kg) sam ili u kombinaciji, i.p., a procijenjeno 24 sata kasnije.	*Gastrointestinalne lezije* Štakori koji su imali samo operativni zahvat (kratko crijevo) imali su blage lezije želuca/ dvanaesnika, dok su oni kojima je također administriran i diklofenak imali proširene ozbiljne lezije u gastrointestinalnom traktu. *Lezije jetre* Štakori koji su imali samo operativni zahvat (kratko crijevo) pokazali su značajne lezije jetre, dok su oni kojima je administriran i diklofenak pokazali su proaširene ozbiljne lezije jetre. *Lezije mozga*

			Štakori koji su imali samo operativni zahvat (kratko crijevo) imali su ozbiljne cerebralne / hipokampalne lezije, dok su oni koji su također uzimali diklofenak pokazali široko rasprostranjene ozbiljne lezije u jezgrama malog mozga / Purkinjeovim stanicama i velikom mozgu / hipokampusu.
Medvidovic-Grubisic i sur. (2017) *Hypermagnesemia disturbances in rats, NO-related: pentadecapeptide BPC 157 abrogates, L -NAME and L-arginine worsen.* Inflammopharmacology 25:439-449.	Magnezij sulfat (560 mg/kg i.p.)	Lijekovi (administrirani i.p. / kg 15 minuta prije magnezija) [BPC 157 (10 μg, 10 ng), L-NAME (5 mg), L-arginin (100 mg), sami i/ili zajedno] kod štakora.	*Slabost mišića, lezije mišića* Ozbiljna mišićna slabost i prostracija smanjila je mišićna vlakna u oba m. kvadricepsu i dijafragmi.Štakori koji su dobivali ili L-NAME ili L-arginin kao pojedinačne agense, a zatim magnezij postali su slabi odmah nakon tretmana magnezijem i pokazali su veću mišićnu slabost i prostraciju. *Hipermagnezijemija, hiperkalemija, povećane vrijednosti enzima u serumu* Dodatno povećana hipermagnezijemija i novonastala hiperkalemija (L-NAME ili L-arginin). *Lezije mozga* Istaknuta oštećenja primijećena su u kori velikog mozga (koja se također proširila na jezgre malog mozga s L-NAME i L-argininom). U HEK293 stanicama, povećanje koncentracije magnezija s 1 na 5 mM

			moglo bi depolarizirati stanice na 1,75 ± 0,44 mV.
Klicek i sur. (2013) *Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 heals cysteamine-colitis and colon-colon-anastomosis and counteracts cuprizone brain injuries and motor disability.* J Physiol Pharmacol 64:597-612.	Odgovarajući toksični model multiple skleroze na štakorima, kuprizon (u usporedbi sa standardnim, nekoliko puta višim režimom, 2,5% režim prehrane + 1 g / kg intragastrično / dan)	BPC 157 (u vodi za piće 0,16 μg ili 0,16 ng/ml / 12 ml / dan / štakor + 10 μg ili 10 ng/kg intragastrično / dan) do žrtvovanja 4. dana.	*Slabost mišića* Cerebelarna ataksija i poremećena funkcija prednjih udova.Kontrolne životinje pogođene toksičnošću kuprizona štede desni prednji ekstremitet, pa reagiraju samo jednim ili ne reagiraju prednjim ekstremitetom i imaju poteškoća s održavanje tjelesne ravnoteže tijekom uspinjanja. *Lezije mozga* Kuprizonske kontrole očito su pokazale pretjerani i ubrzani proces oštećenja;oštećenja živaca pojavila su se u raznim područjima mozga, s najistaknutijim oštećenjima u *corpus callosum*, žutom tijelu, laterodorzalnom talamusu, *nucleus reunions*, motornim neuronima prednjeg roga.

6.2.2. BPC 157 i lezije mozga

U nedavnom istraživanju otkriveno je da BPC 157 ima izravni terapeutski učinak na štakore nakon moždanog udara (npr. suzbija ozljede uslijed ishemije / reperfuzijehipokampusa). Točnije, BPC 157 je apliciran nakon bilateralnog stezanja zajedničkih karotidnih arterija tijekom 20 minuta, nakon čega je uslijedila reperfuzija (386). U štakora izloženih ishemiji, BPC 157 je primijenjen tijekom reperfuzije; suprotstavio se i ranim i odgođenim neuralnim oštećenjima (tj. 24 i 72 sata nakon reperfuzije). Uz to, BPC 157 je promicao potpuni funkcionalni oporavak; ovaj je spoj ublažio deficit u nekoliko zadataka u ponašanju: Morrisov-om vodenom labirintu, nagnutom hodanju i bočnom push testu (386). Također su ispitane promjene u ekspresiji glasničke RNA (mRNA) u mozgu 1 i 24 sata nakon ozljede kako bi se

utvrdio potencijalni mehanizam djelovanja BPC 157. Liječenje BPC 157 dovelo je do povećane regulacije Egr1, Akt1, Kras, Src, Foxo, Srf, Vegfr2, Nos3 i Nos1 i smanjenja regulacije Nos2 i Nfkb u usporedbi s netretiranim štakorima (Mapk1 nije aktiviran) (386). Istaknuta regulacija Egr1 i Vegfr2 sugerira da BPC 157 ima vaskularizacijska svojstva, a ovaj mehanizam vjerojatno leži u osnovi njegove sposobnosti modulacije ozljede ishemije / reprofuzije. Najzanimljiviji nalaz je snažna regulacija Nos3, blaga regulacija Nos1 i suzbijanje Nos2 u usporedbi s kontrolnim životinjama. Ti učinci mogu potencijalno pružiti novo terapijsko rješenje za moždani udar, dajući specifične blagotvorne učinke na SŽS (tj. za reperfuziju, ublažavanje oštećenja neurona i, samim tim, oporavak bez poremećaja pamćenja, lokomotornih i koordinacijskih smetnji i izražavanje određenih gena u hipokampusu) (386).

Kao podrška tim istraživanjima, BPC 157 također suzbija encefalopatije koje se pojavljuju nakon izlaganja različitim agensima ili štetnim postupcima, bez obzira na zahvaćeno područje mozga: traumatska ozljeda mozga (187), selektivni i neselektivni nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID; npr. moždane ciklooksigenaze preferencijalna su inhibitorna meta paracetamola; 154, 446, 447), masivna resekcija crijeva, patologija slična multiploj sklerozi izazvana kuprizonom, predoziranje inzulinom ili predoziranje magnezijem (154, 194). BPC 157 se također može primijeniti za ublažavanje popratnih konvulzija uslijed encefalopatije izazvane NSAID-om (154) (dodatna tablica 2) (442). Režimi liječenja BPC 157 značajno umanjuju oštećenje mozga izazvano traumatskom ozljedom mozga (pad težine); poboljšan je rani ishod i minimalni odgođeni mortalitet tijekom 24-satnog razdoblja nakon ozljede miševa (187).

U konačnici, terapija BPC 157 inducira vidljivo poboljšanje: subarahnoidno i intraventrikularno krvarenje, laceracija mozga, hemoragička laceracija i posljedični edem mozga postaju manje intenzivni (187). Nadalje, liječenje BPC 157 promoviralo je oporavak od ozbiljne mišićne slabosti koja se pojavljuje zajedno s lezijama mozga (154, 194). Kada se primijeni izravno na mozak (382), BPC 157 može djelovati kao mogući antioksidans (191, 193, 448). Značajno je da BPC 157 može uklanjati reaktivne vrste kisika zbog svoje strukture: sadrži četiri karboksilne skupine, a kada se one reaktiviraju (glutationom ili enzimima), njegovo antioksidativno djelovanje postaje veoma snažno (152, 186, 190, 336-338, 443, 444). Uz to, budući da većina tkiva sadrži BPC 157 (190), on može vezati i inaktivirati reaktivne slobodne radikale na ključnim položajima koji nisu dostupni drugim antioksidansima (152, 186, 190, 336-338, 443, 444). Povoljni učinci BPC 157 na hipokampalnu ishemiju / reperfuzijsku ozljedu (uzrokovanu obostranim stezanjem zajedničkih karotidnih arterija) (442) podržani su tijekom Robertove citoprotekcije, izvorno opisane za ozljede endotela izazvane intragastričnom aplikacijom apsolutnog alkohola (336), smatrane Virchowovom trijadom. Sposobnost suzbijanja Robertove

želučane hemoragijske lezije - epitelnih, endotelijalnih i trombotičnih lezija koje proizlaze iz izravnog, štetnog kontakta štetnog agensa sa stanicom - naglašava citoprotekciju (336, 449). Odnos uzroka i posljedica pripisuje blagotvorni učinak BPC 157 u citoprotekciji i implicira brzi odgovor obrane od ozljeda (336). BPC 157 izravno štiti endotel (158). Nadalje, nakon anastomoze trbušne aorte i okluzije velikih vena, BPC 157 zaustavlja stvaranje tromboze i uklanja već formirane trombe (196, 448, 450). BPC 157 također može ublažiti poremećaje okluzije perifernih krvnih žila i posljedične sindrome brzom aktivacijom alternativnih zaobilaznih putova (191, 193, 196, 386). Terapeutski je učinak stabilan, unatoč kontinuiranoj ligaciji (okluzija), a poremećaji uzrokovani ligacijom ne pojavljuju se ponovno (191, 196, 386, 448, 450). Tako je pokazano da se uznapredovali štetni krug može zaustaviti i preokrenuti terapijom s BPC 157. Naime, životinje tretirane BPC-om 157 pokazuju opsežniju i bržu reperfuziju. Takav oporavak vaskularnog kapaciteta može biti osnovni mehanizam kojim BPC 157 olakšava reperfuziju jer suzbija sve već postojeće poremećaje i izrazito umanjuje lezije organa (196, 448). Stoga je vjerojatno da takvo brzo spašavanje vaskularnog kapaciteta može pridonijeti blagotvornim učincima BPC 157 u štakora koji su bili podvrgnuti moždanom udaru i oporavku oštećenja hipokampalne ishemije / reperfuzije (386). Postoje dodatni dokazi da BPC 157 dovodi do brzog spašavanja vaskularnog kapaciteta. U akutnoj intoksikaciji etanolom u miševa, postoji trajna anestezija, hipotermija, povećane vrijednosti etanola u krvi i 25% smrtnosti tijekom 90-minutnog razdoblja procjene (162). BPC 157, bez obzira na to daje li se prije ili nakon intoksikacije etanolom, brzo suzbija gore spomenute negativne učinke (162). Nadalje, BPC 157, kada se daje nakon naglog prestanka uzimanja etanola - kontinuirano pijenje 20% alkohola tijekom 13 dana, uz provokaciju 14. dana - umanjuje povlačenje (procjenjuje se tijekom 24 sata) (162). BPC 157 održava vaskularni integritet kako bi se suprotstavio istjecanju alkohola u tkiva (336), učinak koji potkrepljuje prethodno naglašene dokaze da BPC 157 izravno štiti endotel (158, 338), što je obilježje u studijama citoprotekcije (449). Slijedom toga, istraživači su dosljedno pokazivali da BPC 157 snažno suzbija učinke alkohola primijenjenog u želudac štakora, naime brzo oštećenje endotela (158, 200, 338). Uz to, BPC 157 snažan je membranski stabilizator (444). Stoga se BPC 157 također suprotstavlja portalnoj hipertenziji izazvanoj kroničnom konzumacijom alkohola. Na temelju uloge koju BPC 157 može igrati u antagoniziranju učinka alkohola, Zemba i sur. (2015) pokazano je da BPC 157 može smanjiti opću anestetičku potenciju tiopentala, kao i produženu anesteziju izazvanu kombinacijom L-NAME / tiopentala (179).

6.2.3. BPC 157 i poremećaji u ponašanju

Istraživači sve više izvještavaju o važnosti sustava dušičnog oksida (NO) u terapiji shizofrenije (341) i ekstrapiramidalnim deficitima povezanim s težim psihijatrijskim simptomima (356), poput haloperidolom inducirane katalepsije (172). Nedavno su Zemba Čilić i sur. (2021) (451) pokazali da se BPC 157 suprotstavlja katalepsiji izazvanoj s L-NAME i haloperidolom, kao i deficitima u akutnim i kroničnim modelima simptoma koji liče pozitivnim simptomima shizofrenije u štakora (316, 354). To kombinirano suprotstavljanje može biti ključ za rješavanje složene veze između NO sustava, amfetamina i apomorfina (primjena dopaminergičkih sredstava), MK-801 (nekonkurentni antagonist N-metil-D-aspartat receptora) i kronične primjene metamfetamina (izazivanje osjetljivosti) (451). Ovo otkriće implicira interakciju između BPC 157, dopamina, glutamata i NO, koja je čini se dobro kontrolirana administracijom BPC 157 (451). Aplikacija BPC 157 rješava neobično paralelno podudaranje u suzbijanju poremećaja izazvanih amfetaminom koje L-NAME i L-arginin mogu prouzročiti, kao i deficita u modelima na štakorima koji nalikuju "pozitivnim" simptomima shizofrenije (345). Identificirali smo dva prepoznatljiva odgovora NO sustava. Učinci izazvani akutnim apomorfinom, kroničnim metamfetaminom, akutnim MK-801 ili akutnom primjenom haloperidola (katalepsija) "ne reagiraju na L-NAME, reagiraju na L-arginin" (451). Akutni učinci izazvani amfetaminom "odgovaraju na L-NAME, odgovaraju na L-arginin" (451). Činjenica da NO-posredovani učinci reagiraju na BPC 157 (451) može biti posljedica gore spomenutog potencijala BPC 157 u suprotstavljanju poremećajima induciranim dopaminom (172, 336) i NO-om (153, 179, 191, 348). Osim toga, BPC 157 suzbija simptome u modelima glodavaca kod Parkinsonove bolesti (inducirane 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinom ili rezerpinom (161)). Isto tako, BPC 157 ublažava želučane lezije inducirane 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinom ili rezerpinom (161). Dakle, odnos BPC 157 / dopamin ima brojne učinke. Uključuje interferenciju s blokadom receptora dopamina (172), razvoj preosjetljivosti receptora (173), aktivaciju receptora dopamina (451), prekomjerno oslobađanje dopamina (451), oštećenje nigrostrijatalnih dopaminergičnih neurona (337) i iscrpljivanje dopaminskih vezikula (336). BPC 157 također suzbija štetne učinke kod primjene neuroleptika koji se pojavljuju izvan SŽS-a, poput produljenog QT intervala opaženog elektrokardiografijom (380) ili štetnih učinaka na gastrointestinalni trakt, poput želučanih lezija (339) ili disfunkcije sfinktera (381). Slijedom toga, BPC 157 bi mogao biti presudan za adekvatnu funkciju dopamina i obrnuto (340).

Serotonin i BPC 157 pokazuju sličan odnos (165, 166). U štakora, BPC 157 se suprotstavlja simptomima depresije u Porsoltovom modelu i modelu kroničnog nepredvidivog stresa; također u potpunosti suzbija sve manifestacije serotoninskog sindroma i inducira akutno i kronično oslobađanje serotonina u određenim nigrostrijatalnim regijama mozga (165, 166). Tako, za razliku od imipramina, BPC 157 pokazuje određeni antidepresivni učinak, čak i kada se daje sistemski (165, 166).

Razmatrajući odnos BPC 157 / NO (153, 179, 348, 191), studije u želučanom tkivu otkrile su da BPC 157 inducira oslobađanje NO, čak i u stanju koje isključuje učinak L-arginina (339, 384). U najnovijem istraživanju autori su izvijestili da BPC 157 inducira stvaranje NO u izoliranoj aorti, vjerojatno aktivacijom Src / kaveolin-1 / eNOS puta (452). Dakle, postoji prednost pri korištenju tvari (npr. BPC 157) za moduliranje NO sustava. Ova se pojava može suprotstaviti štetnim učincima L-NAME, inhibitora sintetaze dušikovog oksida i L-arginina, supstrata sintaze dušikovog oksida - tj. hipertenzije izazvane L-NAME i hipotenzije izazvane L-argininom (za pregled , vidi,153). Istraživači su istražili kako se ovaj učinak može praktički prevesti u pojačanu kliničku učinkovitost u pogledu njegovih interakcija sa sustavom NO, na temelju njegovih posebnih učinaka koji se vide u različitim modelima i vrstama (za pregled vidi, 153).

Postoji i prateća analogija s njegovim suprotstavljajućim učinkom na štetne učinke izazvane dopaminom. Poseban primjer je stereotipija inducirana amfetaminom i haloperidolom inducirana katalepsija, a objema se suprotstavlja administracija BPC 157 (172, 173, 452). Iako modeli na životinjama imaju moguća ograničenja (295), mehanizam djelovanja BPC 157, interakcija i učinci BPC 157 / dopamina / glutamata / NO i siguran klinički profil BPC 157 ne mogu se zanemariti (152, 186, 190, 337, 338, 444). Ova otkrića sugeriraju da BPC 157 može utjecati na bitne funkcije i suprotstaviti se disfunkciji koja je u osnovi simptoma sličnih shizofreniji (451). Čimbenik koji može pridonijeti tome je to što BPC 157 povećava oslobađanje serotonina u nigrostrijatalnom području mozga (tijekom akutne ili kronične primjene, utvrđeno mjerenjem visoko-specifičnom autoradiografijom s alfa metil-L-triptofanom). Ovo oslobađanje ima posljedični antidepresivni učinak (uključujući suzbijanje serotoninskog sindroma) i odnos sa serotoninskim sustavom (165, 166). Skupno, suprotstavljanjem BPC 157 kod izlaganja etanolu (162) i ispuštanja diazepama (169), možemo pretpostaviti da BPC 157 ima poseban modulacijski učinak, koji bi mogao biti potreban za održavanje pravilnog funkcioniranja nekoliko sustava (339). BPC 157 je novi i učinkoviti antagonist etanola; uvijek suzbija negativne učinke zbog izloženosti etanolu. S obzirom da malo farmakoloških sredstava dosljedno djeluju kao antagonisti etanola, negativni učinci izazvani

akutnim ili kroničnim alkoholnim poremećajima (162) ne mogu se modulirati tradicionalnom farmakoterapijom (za pregled, vidjeti 453).

Odavno je poznato da je GABAergička transmisija uključena u regulaciju događaja posredovanih dopaminom (povezana s ekstrapiramidnim sustavima) i ponašanja koja ovise o strijatalnim funkcijama (katalepsija, stereotipije). Stoga je zanimljivo da se BPC 157 suprotstavlja poremećajima GABA sustava, poput tolerancije / ispuštanja izazvanih diazepamom (169). Perrault i sur. (1992) su ispitivali fizičku ovisnost, koja se obično proučava u sličnim modelima kao povećanu osjetljivost na konvulzivni izazov, kod miševa koji su kronično liječeni diazepamom u različito vrijeme. Nakon prekida kondicioniranja s diazepamom, autori su ispitali latenciju konvulzija nakon izazova (454). Razvoj tolerancije i fizičke ovisnosti među najozbiljnijim su nuspojavama terapije benzodiazepinima. Važno je da BPC 157 djeluje antikonvulzivno kod nekoliko izazova (154, 455).

Boban Blagaić i sur. (2009) ispitivali su kako aplikacija BPC 157 utječe na analgeziju izazvanu morfijem u usporedbi s opioidnim antagonistom naloksonom. Autori su koristili test vruće ploče kako bi utvrdili kako se nalokson i BPC 157 suprotstavljaju analgeziji izazvanoj morfijem. Nalokson je imao neposredni protuučinak na analgeziju izazvanu morfijem, a BPC 157 je zahtijevao više vremena (30 minuta) da proizvede učinak (170). Haloperidol, središnji antagonist dopamina, pojačava morfijem induciranu analgeziju, a BPC 157 djeluje protiv toga pojačanja; to predstavlja dodatni učinak povezan s dopaminom. Naprotiv, nalokson u potpunosti ukida analgetički učinak; konkretno, reakcija boli vraća se na osnovnu razinu. BPC 157, nalokson i haloperidol sami po sebi ne proizvode analgetsko djelovanje (170).

Primijećeno je da se u miševa BPC 157 suprotstavlja upalnim i neupalnim, o prostaglandinu ovisnim i neovisnim bolovima (npr. štipanje repa, octena kiselina i grčenje uzrokovano magnezijevim sulfatom u miševa). Dakle, BPC 157 može specifično komunicirati s opioidnim sustavom i reakcijom na bol. U štakora, BPC 157, u odnosu na sustav NO, suzbija štetne učinke izazvane lidokainom i također produljuje lokalnu anesteziju (455). Isto tako, BPC 157 djeluje protiv depolarizacije izazvane lidokainom in vitro (455). Očito je da BPC 157 ima posebno siguran profil, koji se prilično razlikuje od standardnih farmakoloških sredstava. Zapravo, za razliku od neuroleptika i antidepresiva, BPC 157 ima posebno kardioprotektivno i antiaritmičko djelovanje (380, 455).

6.2.4. BPC 157 i ozljeda kralježnične moždine

Perović i sur. (2019) izvijestili su da BPC 157 ima izraziti terapeutski učinak koji se odnosi na oporavak štakora s ozljedom leđne moždine s paralizom repa (1-minutna kompresijska ozljeda

sakrokaudalne leđne moždine [S2 – Co1]). Konkretno, jednokratna intraperitonealna primjena BPC 157 10 minuta nakon ozljede suzbija negativne učinke. Suprotno tome, ozljeda kralježnične moždine i paraliza repa i dalje je postojala u neliječenih štakora, danima, tjednima, mjesecima i godinu dana nakon ozljede (456). Treba napomenuti da BPC 157 umanjuje najčešće uzrokovanu štetu (npr. značajnu hemoragijsku zonu u bočnim i stražnjim bijelim stupovima s poštedom sive tvari) (456). Stoga terapija BPC 157 rezultira evidentnim funkcionalnim (oporavljena paraliza repa), mikroskopskim i elektrofiziološkim oporavkom (456). Jednom kada se BPC 157 primijeni 10 minuta nakon kompresijske ozljede (što predstavlja napredni stadij reperfuzije), postoji kontinuirana zaštita i ne pojavljuju se spontane smetnje uzrokovane ozljedom leđne moždine (456). Sve ozljede kralježnične moždine odmah izazivaju krvarenje, uz naknadnu smrt neurona i oligodendrocita (457). Stoga je zamislivo da rana hemostaza može biti korisna i omogućiti funkcionalni oporavak nakon kontuzije leđne moždine u štakora (457).

Međutim, učinak koji vrši BPC 157 vjerojatno se razlikuje od jednostavnog hemostatskog učinka koji bi umanjio ozljedu kralježnične moždine (457), jer BPC 157 također značajno poboljšava funkciju trombocita u štakora bez utjecaja na čimbenike koagulacije (196, 197, 458). Tijekom oporavka od ozljede kralježnične moždine, BPC 157 također izravno štiti endotel (158), ublažava poremećaje okluzije perifernih krvnih žila, brzo aktivira alternativne zaobilazne putove i suzbija sindrome izazvane venskom okluzijom (191, 193, 196, 386, 448, 450). Dakle, pod pretpostavkom da postoji značajan venski doprinos kompresiji kralježnične moždine (459), moguće je da ponovno uspostavljeni krvotok posredovan BPC 157 nesumnjivo može pridonijeti brzom oporavku (456).

Nadalje, uzimajući u obzir da BPC 157 potiče trajnu reperfuziju nakon kompresije leđne moždine, treba imati na umu da kada se BPC 157 daje tijekom reperfuzije, on se suprotstavlja moždanom udaru izazvanom bilateralnim stezanjem zajedničkih karotidnih arterija. BPC 157 rješava neuronska oštećenja i sprječava deficit pamćenja, lokomotorni i koordinacijski deficit (386). BPC 157 očito vrši ove učinke mijenjajući ekspresiju gena u hipokampusu (386). BPC 157 izražava višefaktorsku terapijsku aktivnost u štakora koji su podvrgnuti ozljedi kralježnične moždine (456). Pokazano je protuupalno djelovanje, poboljšanje somatosenzornog oštećenja neurona izazvanog kapsaicinom (460), oporavak ishijadičnog živca nakon transekcije (461) i zaštita kultiviranih neurona crijeva i glija stanica (462). BPC 157 također poboljšava ozljedu mozga izazvanu traumom (187) i teške encefalopatije koje zahvaćaju različita područja mozga (154, 194, 446, 447). Nadalje, BPC 157 ublažava druge posljedice kao što su gastrointestinalne i / ili lezije jetre (154, 446, 447) kao i ozbiljnu mišićnu slabost (194) (tablica 2) (442). Uz to,

BPC 157 potiče zacjeljivanje mehanički odsječenih mišića zbog potpune transekcije, drobljenja i denervacije (463) i primjene intramuskularnog sukcinilkolina (464). Te prednosti uključuju oporavak funkcije mišića i suzbijanje lezija mišića uslijed zatajenja neuromuskularnih spojeva, fascikulacije, paralizu i hiperalgeziju (463, 464). BPC 157 komunicira s različitim molekularnim putovima (184, 196, 206, 207, 336, 387, 444, 452, 462, 465-467) i, na taj način, djeluje protiv povišenih razina proupalnih i prokahektičkih citokina i suzbija tumorsku kaheksiju mišića (337). Konačno, BPC 157 pokazuje aktivnost antidota protiv štetnog učinka lidokaina i lokalnih anestetika (posebno, zatajenje funkcije udova zbog intratekalnog bloka kralježnične moždine L4 – L5, bradikardija i tonično-klonični grčevi i depolarizacija HEK293 stanica) (455). Na temelju bezbrojnih korisnih učinaka posredovanih BPC 157, funkcionalno spašavanje paraliziranog repa, kao i ublažavanje aksonske i neuronske nekroze, demijelinizacije i stvaranja cista (456), možda uzrok ili posljedica korisnih učinaka BPC 157 na povezane poremećaje (152, 186, 190, 336-338, 444). Stoga BPC 157 može utjecati na sve faze faze sekundarne ozljede (456).

BPC 157 ima blagotvorne učinke na moždani udar, shizofreniju i ozljedu kralježnične moždine (386, 451, 456). Nema razloga koji ukazuje na to da su prednosti BPC 157 ograničene valjanošću korištenih modela i / ili ograničenjima metodologije. Doista, možemo tvrditi da učinkovitost, laka primjenjivost, siguran klinički profil i mehanizam BPC 157 (npr. BPC 157 / dopamin / glutamat / NO sustav) predstavljaju alternativni, vjerojatno uspješni, budući terapijski smjer za neurološka stanja. Stoga su potrebne dodatne studije kako bi se razjasnilo kako bi se potencijalna terapija BPC 157 posebno bavila mehanizmom djelovanja koji uključuje više podstaničnih mjesta u SŽS-u. Treba istražiti utjecaj na funkciju većine, ako ne i svih, neuronskih sustava na molekularnoj, staničnoj i sistemskoj razini. Neki visceralni repetitivni releji SŽS-a ili cirkumventrikularni organi, jedni od rijetkih područja u mozgu bez krvno-moždane barijere, poznati su put kojim sistemski primijenjeni peptid može postići središnji učinak. Dakle, mora djelovati unutar osi crijeva i mozga (340), bez obzira je li to djelovanje izravno ili neizravno.

7. ZAKLJUČCI

1. U modelu psihoze BPC 157 je antagonizirao hiperlokomociju i stereotipno ponašanje inducirano amfetaminom
2. U modelu psihoze BPC 157 je antagonizirao hiperlokomociju i stereotipno ponšanje inducirano apomorfinom
3. U modelu psihoze BPC 157 je antagonizirao hiperlokomociju, stereotipno ponašanje i ataksiju induciranu s MK-801
4. U modelu kognitivnog poremećaja BPC 157 je antagonizirao poremećaj prepoznavanja novog objekta induciran ketaminom
5. U modelu otvorenog polja BPC 157 je povećao anksiolitički učinak induciran ketaminom i antagonizirao hiperlokomociju (uspinjanje)
6. U modelu anhedonije BPC 157 je antagonizirao poremećaj preferencije saharoze induciran ketaminom
7. U modelu socijalne interakcije BPC 157 je antagonizirao učinak ketamina na socijalnu interakciju
8. U modelu katalepsije BPC 157 je antagonizirao katalepsiju induciranu haloperidolom
9. U modelu katalepsije BPC 157 je antagonizirao katalepsiju induciranu s L-NAME
10. U modelu intolerancije glukoze BPC 157 je antagonizirao hiperglikemiju induciranu olanzapinom
11. U modelu intolerancije glukoze BPC 157 je antagonizirao hiperglikemiju induciranu bolusom glukoze
12. U modelu katalepsije BPC 157 je antagonizirao katalepsiju induciranu olanzapinom
13. U modelu lokomotorne senzibilizacije BPC 157 je antagonizirao lokomotornu hiperaktivnost induciranu metamfetaminom
14. Na temelju učinaka L-NAME i/ili L-arginina u ispitivanim modelima utvrđene su dvije karakteristične prezentacije NO-putova: antagonizacija (suprotni učinci) ili sinergizam (paralelni učinci), pri čemu je učinak BPC 157 uvijek nadmoćan
15. BPC 157 ima poseban modulacijski učinak, koji bi mogao biti potreban za održavanje pravilnog funkcioniranja nekoliko neurotransmiterskih sustava
16. Temeljem validnosti korištenih modela na životinjama može se zaključiti da bi BPC 157 mogao igrati značajnu ulogu u regulaciji pozitivnih i negativnih simptoma, te kognitivnog poremećaja u shizofreniji
17. BPC 157 ima poseban kardioprotektivni i antiaritmički učinak, te kako je sada pokazno i antidijabetogeni učinak.

8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je sistematično i podrobno istražiti učinke stabilnog pentadekapeptida BPC 157 u interakciji s NO-spojevima u modelima psihoze i nuspojava antipsihotika na štakorima.

Ukupno se koristilo 558 mužjaka štakora soja Wistar. U grupi akutnih pokusa koristilo se ukupno 378 štakora i agensi su bili aplicirani jednokratno. U kroničnim pokusima koristilo se ukupno 180 štakora. Pokusi su bili podijeljeni na akutne (motorna hiperaktivnost, katalepsija, deficit pamćenja, negativni simptomi i intolerancija glukoze) i subkronične pokuse (socijalna interakcija, lokomotorna senzibilizacija). U tako prikladnim modelima fokusirali smo se na odnos učinaka BPC 157, L-NAME (NOS-inhibitor) i L-arginina (NOS-supstrat) prema simptomima sličnim psihozi, koji su bili inducirani različitim agensima u dozama koje su izazivale željeno ponašanje. Agensi (mg/kg intraperitonealno, i.p.) L-NAME (5,0), L-arginin (100,0), BPC 157 (0,01), su davani sami i/ili zajedno, 5 minuta prije izazova akutnih poremećaja motoričke aktivnosti (neizravni/izravni agonisti dopamina (amfetamin (3,0), apomorfin (2,5)), nekompetitivni antagonist NMDA receptora (MK-801 (0,2)), katalepsije (antagonist dopaminskih receptora haloperidol (2,0)), kognitivnog poremećaja (nekompetitivni antagonist NMDA receptora (ketamin (3,0)), anksioznosti i anhedonije (nekompetitivni antagonist NMDA receptora (ketamin (30,0)). U modelu socijalne interakcije (nekompetitivni antagonist NMDA receptora (ketamin (8,0)) administriran je kroz 3 dana. Alternativno, BPC 157 (0,01) je administriran neposredno nakon L-NAME (40 mg/kg) i.p. Također, BPC 157 je administriran neposredno prije bolusa glukoze (glukoza (1,0)) i antipsihotika olanzapina (olanzapin (15,0) i 60 minuta nakon olanzapina. Da bismo inducirali ili spriječili senzibilizaciju, koristili smo kroničnu administraciju metamfetamina u rastućoj dozi, naizmjenično 3 dana tijekom prva 3 tjedana (metamfetamin (3,0 – 6,0 – 9,0), i izazov nakon sljedeća 4 tjedna (metamfetamin (0,5) te lijekove (L- NAME, L-arginin, BPC 157) 5 minuta prije metamfetamina u drugom i trećem tjednu. Dani sami, BPC 157 ili L-arginin su suzbili učinke inducirane amfetaminom, apomorfinom i MK-801 u modelima psihoze, katalepsiju izazvanu haloperidolom, poremećaj prostornog pamćenja induciran ketaminom, anksioznost (samo BPC 157) i anhedoniju induciranu ketaminom, te kroničnu senzibilizaciju induciranu metamfetaminom. BPC 157 je smanjio socijalni deficit induciran ketaminom, dok je L-arginin poništio korisni učinak L-NAME u tom testu. L-NAME nije utjecala na učinke izazvane apomorfinom i MK-801, katalepsiju izazvanu haloperidolom, kroničnu senzibilizaciju izazvanu metamfetaminom, deficit prostornog pamćenja izazvan ketaminom, pogoršala je anhedoniju,

ali i suzbila akutni učinak amfetamina i socijalni deficit induciran ketaminom. U kombinacijama (L-NAME + L-arginin), specifično za NO, L-NAME se suprotstavlja antagonizaciji induciranoj s L-argininom kod apomorfinskih-, MK-801-, haloperidolskih-, metamfetaminskih-, ali ne i kod amfetaminskih štakora. Za razliku od L-arginina, BPC 157 održava svoj protuučinak u prisutnosti NOS-blokade (L-NAME + BPC 157) ili prekomjerne stimulacije NO-sustava (L-arginin + BPC 157). Ilustrirajući odnos BPC 157-L-arginina, BPC 157 je obnovio antagonizaciju (L-NAME + L-arginin + BPC 157) koja je ukinuta koadministracijom L-NAME s L-argininom (L-NAME + L-arginin). BPC 157 je izravno inhibirao katalepsiju izazvanu visokom dozom L-NAME. Napokon, BPC 157 je suzbio hiperglikemiju induciranu bolusom glukoze i hiperglikemiju i katalepsiju izazvanu olanzapinom.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da postoje dvije karakteristične prezentacije NO-puteva: antagonizam (suprotni učinci) ili sinergizam (paralelni učinci), gdje je učinak BPC 157 uvijek superiorniji. Sadašnja studija pruža eksperimentalne dokaze da je pentadekapeptid BPC 157 djelotvoran u suzbijanju učinaka na ponašanje povezanih sa stimulacijom ili blokadom dopaminskih receptora, blokadom NMDA receptora ili blokadom NO sustava što ukazuje na funkcionalnu interakciju između ovog peptida i dopaminergičkog / glutamatergičkog / nitrergičkog sustava. BPC 157 ima poseban modulacijski učinak, potreban za održavanje pravilnog funkcioniranja nekoliko neurotransmitorskih sustava.

BPC 157 posjeduje posebno siguran profil, koji se prilično razlikuje od standardnih farmakoloških sredstava. Zapravo, za razliku od neuroleptika i antidepresiva, BPC 157 ima poseban kardioprotektivni i antiaritmički učinak, te kako je sada pokazno i antidijabetogeni učinak. Temeljem validnosti korištenih modela na životinjama može se zaključiti da bi BPC 157 mogao igrati značajnu ulogu u regulaciji pozitivnih i negativnih simptoma, te kognitivnog poremećaja u shizofreniji.

9. SUMMARY

Effects of pentadecapeptide BPC 157 and interactions with NO compounds in an experimental model of rat psychosis

Andrea Zemba Čilić, 2021.

The aim of this study was to systematically and in detail investigate the effects of stable pentadecapeptide BPC 157 in interaction with NO-compounds in models of psychosis and antipsychotic side effects in rats.

A total of 558 male Wistar rats were used. In the group of acute experiments, a total of 378 rats were used and the agents were administered once. A total of 180 rats were used in chronic experiments. The trials were divided into acute (motor hyperactivity, catalepsy, memory deficits, negative symptoms, and glucose intolerance) and subchronic trials (social interaction, locomotor sensitization). In such suitable models, we focused on the ratio of the effect of BPC 157, L-NAME (NOS inhibitor) and L-arginine (NOS substrate) to psychosis-like symptoms, which were induced by different agents in doses that induced the desired behavior.

Agents (mg / kg intraperitoneally, i.p.) L-NAME (5.0), L-arginine (100.0), BPC 157 (0.01), were administered alone and / or together, 5 minutes before the onset of acute motor impairment (indirect / direct dopamine agonists (amphetamine (3.0), apomorphine (2.5)), non-competitive NMDA receptor antagonist (MK-801 (0.2)), catalepsy (dopamine receptor antagonist haloperidol (2.0)) , cognitive impairment (non - competitive NMDA receptor antagonist (ketamine (3.0)), anxiety and anhedonia (non - competitive NMDA receptor antagonist (ketamine (30.0)). In a social interaction model, a noncompetitive NMDA receptor antagonist (ketamine (8.0)) was administered over 3 days. Alternatively, BPC 157 (0.01) was administered immediately after L-NAME (40 mg / kg) i.p. Also, BPC 157 was administered immediately before bolus glucose (glucose (1.0)) and the antipsychotic olanzapine (olanzapine (15,0)) and 60 minutes after olanzapine. To induce or prevent sensitization, we used chronic administration of methamphetamine in increasing doses, alternately 3 days during the first 3 weeks (methamphetamine) (3.0 - 6.0 - 9.0), and challenge after the next 4 weeks (methamphetamine (0.5) and medications (L-NAME, L-arginine, BPC 157) 5 minutes before methamphetamine in the second and third weeks.

Given alone, BPC 157 or L-arginine suppressed the effects induced by amphetamine, apomorphine, and MK-801 in neurochemical models of psychosis, haloperidol-induced catalepsy, ketamine-induced spatial memory imapairment, ketamine-induced anxiety (only BPC 157) and anhedonia, and chronic methamphetamine induced sensitisation. BPC 157

reduced the ketamine-induced social deficit, while L-arginine nullified the beneficial effect of L-NAME in that test. L-NAME did not affect the effects caused by apomorphine and MK-801, catalepsy caused by haloperidol, chronic sensitization caused by methamphetamine, spatial memory deficit caused by ketamine, worsened anhedonia, but also suppressed the acute effect of amphetamine and social deficit induced by ketamine. In combinations (L-NAME + L-arginine), specific for NO, L-NAME counteracts L-arginine-induced antagonism in apomorphine-, MK-801-, haloperidol-, methamphetamine- and ketamine rats, but not in amphetamine- rats. Unlike L-arginine, BPC 157 maintains its counter-effect in the presence of NOS blockade (L-NAME + BPC157) or overstimulation of the NO system (L-arginine + BPC157). Illustrating the relationships of BPC 157-L-arginine, BPC 157 restored the antagonism (L-NAME + L-arginine + BPC157) which was abolished by co-administration of L-NAME with L-arginine (L-NAME + L-arginine). BPC 157 directly inhibited high-dose L-NAME-induced catalepsy. Finally, BPC 157 suppressed bolus glucose-induced hyperglycemia and olanzapine-induced hyperglycemia and catalepsy.

Based on the obtained results, it can be concluded that there are two characteristic presentations of NO-pathways: antagonism (opposite effects) or synergism (parallel effects), where the effect of BPC 157 is always superior. The present study provides experimental evidence that the pentadecapeptide BPC 157 is effective in suppressing behavioral effects associated with stimulation or blockade of dopamine receptors, blockade of NMDA receptors, or blockade of the NO system suggesting a functional interaction between this peptide and the dopaminergic / glutamatergic / nitrergic system. BPC 157 has a special modulating effect, required to maintain the proper functioning of several neurotransmitter systems.

BPC 157 has a particularly safe profile, which is quite different from standard pharmacological agents. In fact, unlike neuroleptics and antidepressants, BPC 157 has particular cardioprotective and antiarrhythmic effects, and now shown also antidiabetogenic effect. Based on the validity of the animal models used, it can be concluded that BPC 157 could play a significant role in the regulation of positive and negative symptoms, and cognitive impairment in schizophrenia.

KLJUČNE RIJEČI: BPC 157, lokomotorna aktivnost, stereotipija, ataksija, kognitivni deficit, anksioznost, anhedonija, socijalni deficit, katalepsija, hiperglikemija, apomorfin, amfetamin / metamfetamin, MK-801, ketamin, haloperidol, olanzapin, pentadekapeptid BPC-157 , dušikov II oksid, štakor

KEY WORDS: BPC 157, locomotor activity, stereotype, ataxia, cognitive deficit, anxiety, anhedonia, social deficit, catalepsy, hyperglycemia, apomorphine, amphetamine/methamphetamine, MK-801, ketamine, haloperidol, olanzapine, pentadecapeptide BPC-157, nitric monoxide, rat

10. LITERATURA

1. Perez-Costas E, Melendez-Ferro M, Roberts RC. Basal ganglia pathology in schizophrenia: dopamine connections and anomalies. J Neurochem. 2010 Apr;113(2):287-302. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06604.x
2. Kahn RS, Sommer IE, Murray RM, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR, Cannon TD, i sur. Schizophrenia. Nat Rev Dis Primers. 2015 Nov 12;1:15067. doi: 10.1038/nrdp.2015.67
3. Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB. Schizophrenia. Lancet. 2016 Jul 2;388(10039):86-97. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01121-6
4. Joyce EM, Roiser JP. Cognitive heterogeneity in schizophrenia. Curr Opin Psychiatry. 2007 May;20(3):268-72. doi: 10.1097/YCO.0b013e3280ba4975
5. Meyer N, MacCabe JH. Schizophrenia. Medicine 2016;44(11):649–53.
6. Castle DJ, Murray RM. The neurodevelopmental basis of sex differences in schizophrenia. Psychol Med. 1991 Aug;21(3):565-75. doi: 10.1017/s0033291700022194
7. Freedman R. Schizophrenia. N Engl J Med. 2003 Oct 30;349(18):1738-49. doi: 10.1056/NEJMra035458
8. Ross CA, Margolis RL, Reading SA. Neurobiology of schizophrenia. Neuron. 2006 Oct 5;52(1):139-53. doi: 10.1016/j.neuron.2006.09.015
9. Kambeitz J, Abi-Dargham A, Kapur S. Alterations in cortical and extrastriatal subcortical dopamine function in schizophrenia: systematic review and meta-analysis of imaging studies. Br J Psychiatry. 2014 Jun;204(6):420-9. doi: 10.1192/bjp.bp.113.132308
10. Hu W, MacDonald ML, Elswick DE. The glutamate hypothesis of schizophrenia: evidence from human brain tissue studies. Ann N Y Acad Sci. 2015 Mar;1338(1):38-57. doi: 10.1111/nyas.12547
11. Howes OD, McCutcheon R, Owen MJ. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. Biol Psychiatry. 2017 Jan 1;81(1):9-20. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.07.014.
12. Frankle WG, Laruelle M. Neuroreceptor imaging in psychiatric disorders. Ann Nucl Med. 2002 Nov;16(7):437-46. doi: 10.1007/BF02988639
13. Nikolaus S, Antke C, Müller HW. In vivo imaging of synaptic function in the central nervous system: II. Mental and affective disorders. Behav Brain Res. 2009 Dec 1;204(1):32-66. doi: 10.1016/j.bbr.2009.06.009

14. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. Neuropharmacology. 2009;56 Suppl 1(Suppl 1):3-8. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.05.022
15. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. Pharmacol Rev. 2011 Mar;63(1):182-217. doi: 10.1124/pr.110.002642
16. Missale C, Fiorentini C, Collo G. The neurobiology of dopamine receptors: evolution from the dual concept to heterodimer complexes. J Recept Signal Transduct Res. 2010 Oct;30(5):347-54. doi: 10.3109/10799893.2010.506192
17. Xu W, Wang X, Tocker AM, Huang P, Reith ME, Liu-Chen LY, i sur. Functional Characterization of a Novel Series of Biased Signaling Dopamine D3 Receptor Agonists. ACS Chem Neurosci. 2017 Mar 15;8(3):486-500. doi: 10.1021/acschemneuro.6b00221
18. Walaas SI, Aswad DW, Greengard P. A dopamine- and cyclic AMP-regulated phosphoprotein enriched in dopamine-innervated brain regions. Nature. 1983 Jan 6;301(5895):69-71. doi: 10.1038/301069a0
19. Svenningsson P, Nishi A, Fisone G. DARPP-32: an integrator of neurotransmission. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44:269-96. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121415
20. Wang H, Farhan M, Xu J. The involvement of DARPP-32 in the pathophysiology of schizophrenia. Oncotarget. 2017 Apr 21;8(32):53791-53803. doi: 10.18632/oncotarget.17339
21. Fienberg AA, Hiroi N, Mermelstein PG, Song W, Snyder GL, Nishi A, i sur. DARPP-32: regulator of the efficacy of dopaminergic neurotransmission. Science. 1998 Aug 7;281(5378):838-42. doi: 10.1126/science.281.5378.838
22. Sams-Dodd F. Effects of dopamine agonists and antagonists on PCP-induced stereotyped behaviour and social isolation in the rat social interaction test. Psychopharmacology. 1998 Jan 14;135(2):182–93. doi: 10.1007/s002130050500
23. Ralph RJ, Paulus MP, Fumagalli F. Prepulse inhibition deficits and perseverative motor patterns in dopamine transporter knock-out mice: differential effects of D1 and D2 receptor antagonists. J Neurosci. 2001 Jan 1;21(1):305-13. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-01-00305.2001
24. Zheng W, Zeng Z, Bhardwaj SK. Lithium normalizes amphetamine-induced changes in striatal FoxO1 phosphorylation and behaviors in rats. Neuroreport. 2013 Jul 10;24(10):560-5. doi: 10.1097/WNR.0b013e3283623725

25. Baracskay KL, Haroutunian V, Meador-Woodruff JH. Dopamine receptor signaling molecules are altered in elderly schizophrenic cortex. Synapse. 2006;60(4):271–9. doi: 10.1002/syn.20292
26. King MM, Huang CY, Chock PB, Nairn AC, Hemmings HC Jr, Chan KF, i sur. Mammalian brain phosphoproteins as substrates for calcineurin. J Biol Chem. 1984;259(13):8080-3
27. O'Donnell P. Of Mice and Men: What Physiological Correlates of Cognitive Deficits in a Mouse Model of Schizophrenia Tell Us about Psychiatric Disease. Neuron. 2013 Oct;80(2):265–6. doi: 10.1016/j.neuron.2013.10.012
28. Stephan KE, Friston KJ, Frith CD. Dysconnection in Schizophrenia: From Abnormal Synaptic Plasticity to Failures of Self-monitoring. Schizophrenia Bulletin. 2009 Mar 30;35(3):509–27. doi: 10.1093/schbul/sbn176
29. Gold JM, Waltz JA, Matveeva TM, Kasanova Z, Strauss GP, Herbener i sur. Negative symptoms and the failure to represent the expected reward value of actions: behavioral and computational modeling evidence. Arch Gen Psychiatry. 2012 Feb;69(2):129-38. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.1269
30. Maia TV, Frank MJ. An Integrative Perspective on the Role of Dopamine in Schizophrenia. Biological Psychiatry. 2017 Jan;81(1):52–66. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.05.021
31. Leggio GM, Bucolo C, Platania CBM. Current drug treatments targeting dopamine D3 receptor. Pharmacology & Therapeutics. 2016 Sep;165:164–77. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.06.007
32. Citrome L. A review of the pharmacology, efficacy and tolerability of recently approved and upcoming oral antipsychotics: an evidence-based medicine approach. CNS Drugs. 2013 Nov;27(11):879-911. doi: 10.1007/s40263-013-0105-7
33. Citrome L. Brexpiprazole: a new dopamine D_2receptor partial agonist for the treatment of schizophrenia and major depressive disorder. Drugs Today (Barc). 2015 Jul;51(7):397-414. doi: 10.1358/dot.2015.51.7.2358605
34. Maeda K, Sugino H, Akazawa H, Amada N, Shimada J, Futamura T, i sur. Brexpiprazole I: in vitro and in vivo characterization of a novel serotonin-dopamine activity modulator. J Pharmacol Exp Ther. 2014 Sep;350(3):589-604. doi: 10.1124/jpet.114.213793
35. Pan B, Chen J, Lian J. Unique Effects of Acute Aripiprazole Treatment on the Dopamine D2 Receptor Downstream cAMP-PKA and Akt-GSK3β Signalling Pathways in Rats.

Walss-Bass C, editor. PLOS ONE. 2015 Jul 10;10(7):e0132722. doi: 10.1371/journal.pone.0132722

36. Frankel JS, Schwartz TL. Brexpiprazole and cariprazine: distinguishing two new atypical antipsychotics from the original dopamine stabilizer aripiprazole. Therapeutic Advances in Psychopharmacology. 2016 Oct 17;7(1):29–41. doi: 10.1177/2045125316672136
37. Beaulieu J-M, Gainetdinov RR, Caron MG. Akt/GSK3 Signaling in the Action of Psychotropic Drugs. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2009 Feb;49(1):327–47. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.011008.145634
38. Freyberg Z, Ferrando SJ, Javitch JA. Roles of the Akt/GSK-3 and Wnt Signaling Pathways in Schizophrenia and Antipsychotic Drug Action. American Journal of Psychiatry. 2010 Apr;167(4):388–96. doi: 10.1176/appi.ajp.2009.08121873
39. Foster DJ, Conn PJ. Allosteric Modulation of GPCRs: New Insights and Potential Utility for Treatment of Schizophrenia and Other CNS Disorders. Neuron. 2017 May;94(3):431–46. doi: 10.1016/j.neuron.2017.03.016
40. Rossi M, Fasciani I, Marampon F. The First Negative Allosteric Modulator for Dopamine D2 and D3 Receptors, SB269652 May Lead to a New Generation of Antipsychotic Drugs. Mol Pharmacol. 2017 Jun;91(6):586-594. doi: 10.1124/mol.116.107607
41. Trincavelli ML, Daniele S, Orlandini E, Navarro G, Casadó V, Giacomelli C, i sur. A new D2 dopamine receptor agonist allosterically modulates A2A adenosine receptor signalling by interacting with the A2A/D2 receptor heteromer. Cellular Signalling. 2012 Apr;24(4):951–60. doi: 10.1016/j.cellsig.2011.12.018
42. Silvano E, Millan MJ, la Cour CM, Han Y, Duan L, Griffin SA, i sur. The Tetrahydroisoquinoline Derivative SB269,652 Is an Allosteric Antagonist at Dopamine D3 and D2 Receptors. Molecular Pharmacology. 2010 Aug 11;78(5):925–34. doi: 10.1124/mol.110.065755
43. Tan ML, Basu D, Kwiecien JM. Preclinical pharmacokinetic and toxicological evaluation of MIF-1 peptidomimetic, PAOPA: examining the pharmacology of a selective dopamine D2 receptor allosteric modulator for the treatment of schizophrenia. Peptides. 2013 Apr;42:89-96. doi: 10.1016/j.peptides.2013.02.004
44. Park SM, Chen M, Schmerberg CM, Dulman RS, Rodriguiz RM, Caron MG, i sur. Effects of β-Arrestin-Biased Dopamine D2 Receptor Ligands on Schizophrenia-Like Behavior in Hypoglutamatergic Mice. Neuropsychopharmacology. 2015 Jul 1;41(3):704–15. doi: 10.1038/npp.2015.196

45. Beaulieu JM, Espinoza S, Gainetdinov RR. Dopamine receptors - IUPHAR Review 13. Br J Pharmacol. 2015 Jan;172(1):1-23. doi: 10.1111/bph.12906
46. Urs NM, Peterson SM, Caron MG. New Concepts in Dopamine D2 Receptor Biased Signaling and Implications for Schizophrenia Therapy. Biological Psychiatry. 2017 Jan;81(1):78–85. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.10.011
47. De Deurwaerdère P. Cariprazine:New dopamine biased agonist for neuropsychiatric disorders. Drugs Today (Barc). 2016 Feb;52(2):97-110. doi: 10.1358/dot.2016.52.2.2461868
48. Kiss B, Horváth A, Némethy Z, Schmidt É, Laszlovszky I, Bugovics G, i sur. Cariprazine (RGH-188), a Dopamine D3 Receptor-Preferring, D3/D2 Dopamine Receptor Antagonist–Partial Agonist Antipsychotic Candidate: In Vitro and Neurochemical Profile. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2010 Jan 21;333(1):328–40. doi: 10.1124/jpet.109.160432
49. Gao Y, Peterson S, Masri B, Hougland MT, Adham N, Gyertyán I, i sur. Cariprazine exerts antimanic properties and interferes with dopamine D2 receptor β-arrestin interactions. Pharmacol Res Perspect. 2015 Feb;3(1):e00073. doi: 10.1002/prp2.73
50. Carrick WT, Burks B, Cairns MJ. Noncoding RNA Regulation of Dopamine Signaling in Diseases of the Central Nervous System. Front Mol Biosci. 2016 Oct 25;3:69. doi: 10.3389/fmolb.2016.00069
51. Parmar M, Grealish S, Henchcliffe C. The future of stem cell therapies for Parkinson disease. Nature Reviews Neuroscience. 2020 Jan 6;21(2):103–15. doi: 10.1038/s41583-019-0257-7
52. Barker RA, Parmar M, Studer L. Human Trials of Stem Cell-Derived Dopamine Neurons for Parkinson's Disease: Dawn of a New Era. Cell Stem Cell. 2017 Nov 2;21(5):569-573. doi: 10.1016/j.stem.2017.09.014
53. Miller MR, Megson IL. Recent developments in nitric oxide donor drugs. British Journal of Pharmacology. 2007 Jun;151(3):305–21. doi: 10.1038/sj.bjp.0707224
54. Menconi MJ, Unno N, Smith M. Nitric oxide donor-induced hyperpermeability of cultured intestinal epithelial monolayers: role of superoxide radical, hydroxyl radical, and peroxynitrite. Biochim Biophys Acta. 1998 Sep 16;1425(1):189-203. doi: 10.1016/s0304-4165(98)00072-5
55. Scatena R, Bottoni P, Pontoglio A. Pharmacological modulation of nitric oxide release: new pharmacological perspectives, potential benefits and risks. Curr Med Chem. 2010;17(1):61-73. doi: 10.2174/092986710789957841

56. Godínez-Rubí M, Rojas-Mayorquín AE, Ortuño-Sahagún D. Nitric oxide donors as neuroprotective agents after an ischemic stroke-related inflammatory reaction. Oxid Med Cell Longev. 2013;2013:297357. doi: 10.1155/2013/297357
57. Bujas-Bobanovic M, Bird DC, Robertson HA. Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. British Journal of Pharmacology. 2000 Jul;130(5):1005–12. doi: 10.1038/sj.bjp.0703406
58. Pitsikas N, Zisopoulou S, Sakellaridis N. Nitric oxide donor molsidomine attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801. J Neurosci Res. 2006 Aug 1;84(2):299-305. doi: 10.1002/jnr.20889
59. Maia-de-Oliveira JP, Lobão-Soares B, Ramalho T, Gavioli EC, Soares VP, Teixeira L, i sur. Nitroprusside single-dose prevents the psychosis-like behavior induced by ketamine in rats for up to one week. Schizophrenia Research. 2015 Mar;162(1-3):211–5. doi: 10.1016/j.schres.2014.12.035
60. Kandratavicius L, Balista PA, Wolf DC, Abrao J, Evora PR, Rodrigues AJ, i sur. Effects of nitric oxide-related compounds in the acute ketamine animal model of schizophrenia. BMC Neurosci. 2015 Mar 7;16:9. doi: 10.1186/s12868-015-0149-3
61. Yamada K, Hiramatsu M, Noda Y, Mamiya T, Murai M, Kameyama T, i sur. Role of nitric oxide and cyclic GMP in the dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. Neuroscience. 1996 Sep;74(2):365-74. doi: 10.1016/0306-4522(96)00161-3
62. Beninger RJ, Forsyth JK, Van Adel M. Subchronic MK-801 behavioural deficits in rats: partial reversal by the novel nitrate GT 1061. Pharmacol Biochem Behav. 2009 Feb;91(4):495-502. doi: 10.1016/j.pbb.2008.09.003
63. Gourgiotis I, Kampouri NG, Koulouri V, Lempesis IG, Prasinou MD, Georgiadou G, i sur. Nitric oxide modulates apomorphine-induced recognition memory deficits in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2012 Oct;102(4):507–14. doi: 10.1016/j.pbb.2012.06.013
64. Issy AC, Pedrazzi JF, Yoneyama BH. Critical role of nitric oxide in the modulation of prepulse inhibition in Swiss mice. Psychopharmacology (Berl). 2014 Feb;231(4):663-72. doi: 10.1007/s00213-013-3277-4
65. Wiley JL, Golden KM, Bowen SE. Effects of modulation of nitric oxide on acoustic startle responding and prepulse inhibition in rats. Eur J Pharmacol. 1997 Jun 11;328(2-3):125-30. doi: 10.1016/s0014-2999(97)83038-5

66. Hallak JE, Maia-de-Oliveira JP, Abrao J, Evora PR, Zuardi AW, Crippa JA, i sur. Rapid improvement of acute schizophrenia symptoms after intravenous sodium nitroprusside: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. JAMA Psychiatry. 2013 Jul;70(7):668-76. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2013.1292
67. Maia-de-Oliveira JP, Abrao J, Evora PR, Zuardi AW, Crippa JAS, Belmonte-de-Abreu P, i sur. The Effects of Sodium Nitroprusside Treatment on Cognitive Deficits in Schizophrenia. Journal of Clinical Psychopharmacology. 2015 Feb;35(1):83–5. doi: 10.1097/jcp.0000000000000258
68. Keilhoff G, Becker A, Grecksch G. Repeated application of ketamine to rats induces changes in the hippocampal expression of parvalbumin, neuronal nitric oxide synthase and cFOS similar to those found in human schizophrenia. Neuroscience. 2004;126(3):591-8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.03.039
69. Mariotto S, Cuzzolin L, Adami A. Inhibition by sodium nitroprusside of the expression of inducible nitric oxide synthase in rat neutrophils. Br J Pharmacol. 1995 Mar;114(6):1105-6. doi: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb13320.x
70. de Oliveira L, Spiazzi CM, Bortolin T, Canever L, Petronilho F, Mina FG, i sur. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009 Aug 31;33(6):1003-8. doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.05.010
71. West AR, Galloway MP, Grace AA. Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: Effector pathways and signaling mechanisms. Synapse. 2002 Apr 25;44(4):227–45. doi: 10.1002/syn.10076
72. Hoque KE, Indorkar RP, Sammut S. Impact of dopamine–glutamate interactions on striatal neuronal nitric oxide synthase activity. Psychopharmacology. 2009 Oct 9;207(4):571–81. doi: 10.1007/s00213-009-1687-0
73. de Lima MN, Presti-Torres J, Dornelles A, Scalco FS, Roesler R, Garcia VA, i sur. Modulatory influence of dopamine receptors on consolidation of object recognition memory. Neurobiol Learn Mem. 2011 Mar;95(3):305-10. doi: 10.1016/j.nlm.2010.12.007
74. Xu TX, Sotnikova TD, Liang C, Zhang J, Jung JU, Spealman RD, i sur. Hyperdopaminergic tone erodes prefrontal long-term potential via a D2 receptor-operated protein phosphatase gate. J Neurosci. 2009 Nov 11;29(45):14086-99. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0974-09.2009

75. Sammut S, Bray KE, West AR. Dopamine D2 receptor-dependent modulation of striatal NO synthase activity. Psychopharmacology. 2007 Jan 6;191(3):793–803. Doi: 10.1007/s00213-006-0681-z
76. Bamford NS, Robinson S, Palmiter RD. Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. J Neurosci. 2004 Oct 27;24(43):9541-52. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2891-04.2004
77. Wang H, Pickel VM. Dopamine D2 receptors are present in prefrontal cortical afferents and their targets in patches of the rat caudate-putamen nucleus. J Comp Neurol. 2002 Jan 21;442(4):392-404. doi: 10.1002/cne.10086
78. Robello M, Amico C, Bucossi G. Nitric oxide and GABAA receptor function in the rat cerebral cortex and cerebellar granule cells. Neuroscience. 1996 Sep;74(1):99-105. doi: 10.1016/0306-4522(96)00110-8
79. Contestabile A, Monti B, Contestabile A. Brain Nitric Oxide and Its Dual Role in Neurodegeneration / Neuroprotection: Understanding Molecular Mechanisms to Devise Drug Approaches. Current Medicinal Chemistry. 2003 Oct 1;10(20):2147–74, doi: 10.2174/0929867033456792
80. Southan GJ, Szabó C. Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. Biochemical Pharmacology. 1996 Feb;51(4):383–94. doi: 10.1016/0006-2952(95)02099-3
81. Moore PK, Handy RLC. Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase – is no NOS really good NOS for the nervous system? Trends in Pharmacological Sciences. 1997 Jun;18(6):204–11. doi: 10.1016/s0165-6147(97)01064-x
82. Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. British Journal of Pharmacology. 1990 Nov;101(3):746–52. doi: 10.1111/j.1476-5381.1990.tb14151.x
83. Moncada S, Rees DD, Schulz R. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1991 Mar 15;88(6):2166–70. doi: 10.1073/pnas.88.6.2166
84. Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC. L-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. Br J Pharmacol. 1991 Jan;102(1):198-202. doi: 10.1111/j.1476-5381.1991.tb12153.x

85. Nava E, Palmer RM, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? Lancet. 1991 Dec 21-28;338(8782-8783):1555-7. doi: 10.1016/0140-6736(91)92375-c
86. Nagafuji T, Sugiyama M, Muto A. The neuroprotective effect of a potent and selective inhibitor of type I NOS (L-MIN) in a rat model of focal cerebral ischaemia. Neuroreport. 1995 Jul 31;6(11):1541-5. doi: 10.1097/00001756-199507310-00019
87. Zhang F, Casey RM, Ross ME. Aminoguanidine Ameliorates and l-Arginine Worsens Brain Damage From Intraluminal Middle Cerebral Artery Occlusion. Stroke. 1996 Feb;27(2):317–23. doi: 10.1161/01.str.27.2.317
88. Dingman A, Lee SY, Derugin N. Aminoguanidine inhibits caspase-3 and calpain activation without affecting microglial activation following neonatal transient cerebral ischemia. J Neurochem. 2006 Mar;96(5):1467-79. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03672.x
89. McNaught KS, Jenner P. Altered glial function causes neuronal death and increases neuronal susceptibility to 1-methyl-4-phenylpyridinium- and 6-hydroxydopamine-induced toxicity in astrocytic/ventral mesencephalic co-cultures. J Neurochem. 1999 Dec;73(6):2469-76. doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0732469.x
90. Kurosaki R, Muramatsu Y, Michimata M, Matsubara M, Kato H, Imai Y, i sur. Role of nitric oxide synthase against MPTP neurotoxicity in mice. Neurological Research. 2002 Oct;24(7):655–62. doi: 10.1179/016164102101200717
91. Watanabe Y, Kato H, Araki T. Protective action of neuronal nitric oxide synthase inhibitor in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Metab Brain Dis. 2008 Mar;23(1):51-69. doi: 10.1007/s11011-007-9080-3
92. Rodrigues L, Biasibetti R, Swarowsky A, Leite MC, Quincozes-Santos A, Quilfeldt JA, i sur. Hippocampal alterations in rats submitted to streptozotocin-induced dementia model are prevented by aminoguanidine. J Alzheimers Dis. 2009;17(1):193-202. doi: 10.3233/JAD-2009-1034
93. Deutsch SI, Rosse RB, Paul SM, Tomasino V, Koetzner L, Morn CB, i sur. 7-Nitroindazole and methylene blue, inhibitors of neuronal nitric oxide synthase and NO-stimulated guanylate cyclase, block MK-801-elicited behaviors in mice. Neuropsychopharmacology. 1996 Jul;15(1):37-43. doi: 10.1016/0893-133X(95)00153-5
94. Abekawa T, Ohmori T, Koyama T. Effect of no synthesis inhibition on striatal dopamine release and stereotyped behavior induced by a single administration of

methamphetamine. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 1997 Jul;21(5):831–8. doi: 10.1016/s0278-5846(97)00083-3

95. Johansson C, Jackson DM, Svensson L. Nitric oxide synthase inhibition blocks phencyclidine-induced behavioural effects on prepulse inhibition and locomotor activity in the rat. Psychopharmacology (Berl). 1997 May;131(2):167-73. doi: 10.1007/s002130050280
96. Wiley JL. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition. Neuropsychopharmacology. 1998 Jul;19(1):86-94. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00008-6
97. Klamer D, Engel JA, Svensson L. The nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME, blocks phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in mice. Psychopharmacology. 2001 Jun 22;156(2-3):182–6. doi: 10.1007/s002130100783
98. Klamer D, Engel JA, Svensson L. Phencyclidine-induced behaviour in mice prevented by methylene blue. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2004 Feb;94(2):65-72. doi: 10.1111/j.1742-7843.2004.pto940203.x
99. Klamer D, Engel JA, Svensson L. The neuronal selective nitric oxide synthase inhibitor, Nω-propyl-l-arginine, blocks the effects of phencyclidine on prepulse inhibition and locomotor activity in mice. European Journal of Pharmacology. 2004 Oct;503(1-3):103–7. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.09.042
100. Klamer D, Zhang J, Engel JA. Selective interaction of nitric oxide synthase inhibition with phencyclidine: behavioural and NMDA receptor binding studies in the rat. Behavioural Brain Research. 2005 Apr;159(1):95–103. doi: 10.1016/j.bbr.2004.10.006
101. Johansson C, Jackson DM, Zhang J. Prepulse inhibition of acoustic startle, a measure of sensorimotor gating: Effects of antipsychotics and other agents in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1995 Dec;52(4):649–54. doi: 10.1016/0091-3057(95)00160-x
102. Salum C, Guimarães FS, Brandão ML. Dopamine and nitric oxide interaction on the modulation of prepulse inhibition of the acoustic startle response in the Wistar rat. Psychopharmacology (Berl). 2006 Apr;185(2):133-41. doi: 10.1007/s00213-005-0277-z
103. Wass C, Archer T, Pålsson E, Fejgin K, Klamer D, Engel JA, i sur. Effects of phencyclidine on spatial learning and memory: Nitric oxide-dependent mechanisms. Behavioural Brain Research. 2006 Jul;171(1):147–53. doi: 10.1016/j.bbr.2006.03.036

104. Wass C, Archer T, Pålsson E, Fejgin K, Alexandersson A, Klamer D, i sur. Phencyclidine affects memory in a nitric oxide-dependent manner: working and reference memory. Behav Brain Res. 2006 Nov 1;174(1):49-55. doi: 10.1016/j.bbr.2006.07.003
105. Wass C, Svensson L, Fejgin K, Pålsson E, Archer T, Engel JA, i sur. Nitric oxide synthase inhibition attenuates phencyclidine-induced disruption of cognitive flexibility. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2008 May;89(3):352–9. doi: 10.1016/j.pbb.2008.01.011
106. Wass C, Klamer D, Fejgin K. The importance of nitric oxide in social dysfunction. Behav Brain Res. 2009 Jun 8;200(1):113-6. doi: 10.1016/j.bbr.2009.01.002
107. Issy AC, Salum C, Del Bel EA. Nitric oxide modulation of methylphenidate-induced disruption of prepulse inhibition in Swiss mice. Behav Brain Res. 2009 Dec 28;205(2):475-81. doi: 10.1016/j.bbr.2009.08.003
108. Fejgin K, Pålsson E, Wass C. Prefrontal GABA(B) receptor activation attenuates phencyclidine-induced impairments of prepulse inhibition: involvement of nitric oxide. Neuropsychopharmacology. 2009 Jun;34(7):1673-84. doi: 10.1038/npp.2008.225
109. Salum C, Raisman-Vozari R, Michel PP, Gomes MZ, Mitkovski M, Ferrario JE, i sur. Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons. Brain Res. 2008 Mar 10;1198:27-33. doi: 10.1016/j.brainres.2007.12.054
110. Boultadakis A, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on recognition and spatial memory deficits produced by different NMDA receptor antagonists in the rat. Neuropsychopharmacology. 2010 Nov;35(12):2357-66. doi: 10.1038/npp.2010.109
111. Georgiadou G, Pitsikas N. Repeated administration of the nitric oxide synthase inhibitor l-NAME differentially affects rats' recognition memory. Behav Brain Res. 2011 Oct 10;224(1):140-4. doi: 10.1016/j.bbr.2011.05.037
112. Johansson C, Deveney AM, Reif D. The neuronal selective nitric oxide inhibitor AR-R 17477, blocks some effects of phencyclidine, while having no observable behavioural effects when given alone. Pharmacol Toxicol. 1999 May;84(5):226-33. doi: 10.1111/j.1600-0773.1999.tb01487.x
113. Klamer D, Pålsson E, Revesz A. Habituation of acoustic startle is disrupted by psychotomimetic drugs: differential dependence on dopaminergic and nitric oxide modulatory mechanisms. Psychopharmacology (Berl). 2004 Nov;176(3-4):440-50. doi: 10.1007/s00213-004-1901-z

114. Pålsson E, Lowry J, Klamer D. Information processing deficits and nitric oxide signalling in the phencyclidine model of schizophrenia. Psychopharmacology (Berl). 2010 Dec;212(4):643-51. doi: 10.1007/s00213-010-1992-7
115. Pereira M, Siba IP, Chioca LR, Correia D, Vital MA, Pizzolatti MG, i sur. Myricitrin, a nitric oxide and protein kinase C inhibitor, exerts antipsychotic-like effects in animal models. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011 Aug 15;35(7):1636-44. doi: 10.1016/j.pnpbp.2011.06.002
116. Bergstrom HC, Darvesh AS, Berger SP. Inducible Nitric Oxide Inhibitors Block NMDA Antagonist-Stimulated Motoric Behaviors and Medial Prefrontal Cortical Glutamate Efflux. Front Pharmacol. 2015 Dec 15;6:292. doi: 10.3389/fphar.2015.00292
117. Lafioniatis A, Orfanidou MA, Papadopoulou ES. Effects of the inducible nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine in two different rat models of schizophrenia. Behav Brain Res. 2016 Aug 1;309:14-21. doi: 10.1016/j.bbr.2016.04.043
118. Deutsch SI, Rosse RB, Schwartz BL. Methylene blue adjuvant therapy of schizophrenia. Clin Neuropharmacol. 1997 Aug;20(4):357-63. doi: 10.1097/00002826-199708000-00008
119. Loftis JM, Wilhelm CJ, Huckans M. Effect of epigallocatechin gallate supplementation in schizophrenia and bipolar disorder: an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Ther Adv Psychopharmacol. 2013 Feb;3(1):21-7. doi: 10.1177/2045125312464103
120. Nasyrova RF, Ivashchenko DV, Ivanov MV. Role of nitric oxide and related molecules in schizophrenia pathogenesis: biochemical, genetic and clinical aspects. Front Physiol. 2015 May 11;6:139. doi: 10.3389/fphys.2015.00139
121. Wass C, Klamer D, Katsarogiannis E, Pålsson E, Svensson L, Fejgin i sur. L-lysine as adjunctive treatment in patients with schizophrenia: a single-blinded, randomized, cross-over pilot study. BMC Med. 2011 Apr 18;9:40. doi: 10.1186/1741-7015-9-40
122. Zeinoddini A, Ahadi M, Farokhnia M. L-lysine as an adjunct to risperidone in patients with chronic schizophrenia: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. J Psychiatr Res. 2014 Dec;59:125-31. doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.08.016
123. Liu F, Guo X, Wu R, Ou J, Zheng Y, Zhang B, i sur. Minocycline supplementation for treatment of negative symptoms in early-phase schizophrenia: a double blind, randomized, controlled trial. Schizophr Res. 2014 Mar;153(1-3):169-76. doi: 10.1016/j.schres.2014.01.011

124. Del Bel EA, Guimarães FS, Bermúdez-Echeverry M, Gomes MZ, Schiaveto-de-souza A, Padovan-Neto FE, i sur. Role of nitric oxide on motor behavior. Cell Mol Neurobiol. 2005 Mar;25(2):371-92. doi: 10.1007/s10571-005-3065-8
125. Del Bel EA, da Silva CA, Guimarães FS. Catalepsy induced by nitric oxide synthase inhibitors. Gen Pharmacol. 1998 Feb;30(2):245-8. doi: 10.1016/s0306-3623(97)00075-x
126. Del-Bel EA, Guimarães FS, Joca SR. Tolerance to the cataleptic effect that follows repeated nitric oxide synthase inhibition may be related to functional enzymatic recovery. J Psychopharmacol. 2010 Mar;24(3):397-405. doi: 10.1177/0269881108097717
127. Du W, Weiss H, Harvey JA. Associative learning is enhanced by selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors and retarded by a nitric oxide donor in the rabbit. Psychopharmacology (Berl). 2000 Jun;150(3):264-71. doi: 10.1007/s002130000412
128. Moghaddam B, Adams B, Verma A. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. J Neurosci. 1997 Apr 15;17(8):2921-7. doi: 10.1523/JNEUROSCI.17-08-02921.1997
129. Pålsson E, Finnerty N, Fejgin K, Klamer D, Wass C, Svensson L, sur. Increased cortical nitric oxide release after phencyclidine administration. Synapse. 2009 Dec;63(12):1083–8. doi: 10.1002/syn.20690
130. Fejgin K, Pålsson E, Wass C. Nitric oxide signaling in the medial prefrontal cortex is involved in the biochemical and behavioral effects of phencyclidine. Neuropsychopharmacology. 2008 Jul;33(8):1874-83. doi: 10.1038/sj.npp.1301587
131. Roenker NL, Gudelsky GA, Ahlbrand R. Evidence for involvement of nitric oxide and GABA(B) receptors in MK-801- stimulated release of glutamate in rat prefrontal cortex. Neuropharmacology. 2012 Sep;63(4):575-81. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.04.032
132. Biggio G, Costa E, Guidotti A. Pharmacologically induced changes in the 3':5'-cyclic guanosine monophosphate content of rat cerebellar cortex: difference between apomorphine, haloperidol and harmaline. J Pharmacol Exp Ther. 1977 Jan;200(1):207-15
133. Issy AC, Del Bel EA. 7-Nitroindazole blocks the prepulse inhibition disruption and c-Fos increase induced by methylphenidate. Behav Brain Res. 2014 Apr 1;262:74-83. doi: 10.1016/j.bbr.2013.12.042
134. Bashkatova V, Kraus MM, Vanin A. 7-nitroindazole, nNOS inhibitor, attenuates amphetamine-induced amino acid release and nitric oxide generation but not lipid peroxidation in the rat brain. J Neural Transm (Vienna). 2005 Jun;112(6):779-88. doi: 10.1007/s00702-004-0224-x

135. Guix FX, Uribesalgo I, Coma M. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. Prog Neurobiol. 2005 Jun;76(2):126-52. doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.06.001
136. Grima G, Benz B, Parpura V. Dopamine-induced oxidative stress in neurons with glutathione deficit: implication for schizophrenia. Schizophr Res. 2003 Aug 1;62(3):213-24. doi: 10.1016/s0920-9964(02)00405-x
137. Yamada K, Komori Y, Tanaka T, Senzaki K, Nikai T, Sugihara H, i sur. Brain dysfunction associated with an induction of nitric oxide synthase following an intracerebral injection of lipopolysaccharide in rats. Neuroscience. 1999 Jan;88(1):281-94. doi: 10.1016/s0306-4522(98)00237-1
138. Iravani MM, Kashefi K, Mander P. Involvement of inducible nitric oxide synthase in inflammation-induced dopaminergic neurodegeneration. Neuroscience. 2002;110(1):49-58. doi: 10.1016/s0306-4522(01)00562-0
139. Shibata H, Katsuki H, Nishiwaki M. Lipopolysaccharide-induced dopaminergic cell death in rat midbrain slice cultures: role of inducible nitric oxide synthase and protection by indomethacin. J Neurochem. 2003 Sep;86(5):1201-12. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01929.x
140. Permpoonputtana K, Govitrapong P. The anti-inflammatory effect of melatonin on methamphetamine-induced proinflammatory mediators in human neuroblastoma dopamine SH-SY5Y cell lines. Neurotox Res. 2013 Feb;23(2):189-99. doi: 10.1007/s12640-012-9350-7
141. Wilhelmsen I. Brain-gut axis as an example of the bio-psycho-social model. Gut. 2000 Dec;47 Suppl 4(Suppl 4):iv5-7; discussion iv10. doi: 10.1136/gut.47.suppl_4.iv5
142. Chen X, D'Souza R, Hong ST. The role of gut microbiota in the gut-brain axis: current challenges and perspectives. Protein Cell. 2013 Jun;4(6):403-14. doi: 10.1007/s13238-013-3017-x
143. Szabo S, Glavin GB. Hans Selye and the concept of biologic stress. Ulcer pathogenesis as a historical paradigm. Ann N Y Acad Sci. 1990;597:14-6. doi: 10.1111/j.1749-6632.1990.tb16153.x
144. Taché Y, Kolve E, Maeda-Hagiwara M. Central nervous system action of calcitonin to alter experimental gastric ulcers in rats. Gastroenterology. 1988 Jan;94(1):145–50. doi: 10.1016/0016-5085(88)90622-1
145. Taché Y. CNS peptides and regulation of gastric acid secretion. Annu Rev Physiol. 1988;50:19-39. doi: 10.1146/annurev.ph.50.030188.000315

146. Taché Y, Ishikawa T, Gunion M. Central nervous system action of bombesin to influence gastric secretion and ulceration. Ann N Y Acad Sci. 1988;547:183-93. doi: 10.1111/j.1749-6632.1988.tb23886.x
147. Taché Y, Maeda-Hagiwara M, Goto Y, Garrick T. Central nervous system action of TRH to stimulate gastric function and ulceration. Peptides. 1988;9 Suppl 1:9-13. doi: 10.1016/0196-9781(88)90216-1
148. Pappas TN, Welton M, Debas HT, Rivier J, Taché Y. Corticotropin-releasing factor inhibits gastric emptying in dogs: studies on its mechanism of action. Peptides. 1987 Nov-Dec;8(6):1011-4. doi: 10.1016/0196-9781(87)90129-x
149. Gunion MW, Taché Y. Bombesin microinfusion into the paraventricular nucleus suppresses gastric acid secretion in the rat. Brain Res. 1987 Sep 29;422(1):118-28. doi: 10.1016/0006-8993(87)90546-4
150. Hernandez DE. Neuroendocrine mechanisms of stress ulceration: focus on thyrotropin-releasing hormone (TRH). Life Sci. 1986 Jul 28;39(4):279-96. doi: 10.1016/0024-3205(86)90646-6
151. Taché Y, Kolve E, Kauffman G. Potent CNS action of calcitonin to inhibit cysteamine-induced duodenal ulcers in rat. Life Sci. 1987 Aug 3;41(5):651-5. doi: 10.1016/0024-3205(87)90420-6
152. Seiwerth S, Brcic L, Vuletic LB, Kolenc D, Aralica G, Misic M, i sur. BPC 157 and blood vessels. Curr Pharm Des. 2014;20(7):1121-5. doi: 10.2174/13816128113199990421
153. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157-NO-system relation. Curr Pharm Des. 2014;20(7):1126-35. doi: 10.2174/13816128113190990411
154. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, i sur. Toxicity by NSAIDs. Counteraction by stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Curr Pharm Des. 2013;19(1):76-83. doi: 10.2174/13816128130111
155. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, i sur. Focus on ulcerative colitis: stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Curr Med Chem. 2012;19(1):126-32. doi: 10.2174/092986712803414015
156. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Stancic Rokotov D, Brcic L, i sur. Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157: Novel Therapy in Gastrointestinal Tract. Current Pharmaceutical Design. 2011 Jun 1;17(16):1612–32. doi: 10.2174/138161211796196954

157. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, i sur. Revised Robert's cytoprotection and adaptive cytoprotection and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Possible significance and implications for novel mediator. Curr Pharm Des. 2010;16(10):1224-34. doi: 10.2174/138161210790945977
158. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Blagaic AB, Zoricic I, Sever M, i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL 14736, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. Inflammopharmacology. 2006 Dec;14(5-6):214-21. doi: 10.1007/s10787-006-1531-7
159. Sikirić P, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Grabarević Z, Rotkvić I, i sur. A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC. J Physiol Paris. 1993;87(5):313-27. doi: 10.1016/0928-4257(93)90038-u
160. Klicek R, Patrlj L, Zoricic I, Hrelec M, Sever M, Seiwerth S, i sur. The Pentadecapeptide BPC 157 Effective in Healing the Colon-Colon Anastomosis Complicated With Cysteamine Induced Colitis. Gastroenterology. 2010 May;138(5):S–702. doi: 10.1016/s0016-5085(10)63229-5
161. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, I sur. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydrophyridine. J Physiol Paris. 1999 Dec;93(6):505-12. doi: 10.1016/s0928-4257(99)00119-9
162. Boban-Blagaic A, Blagaic V, Romic Z, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, I sur. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. The effect of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine. Med Sci Monit. 2006 Jan;12(1):BR36-45
163. Blagaic AB, Blagaic V, Romic Z, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. Eur J Pharmacol. 2004 Sep 24;499(3):285-90. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.07.112
164. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances. Acta Pharmacol Sin. 2002;23(5):412-22
165. Boban Blagaic A, Blagaic V, Mirt M, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, i sur. Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats. Eur J Pharmacol. 2005 Apr 11;512(2-3):173-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.02.033

166. Tohyama Y, Sikirić P, Diksic M. Effects of pentadecapeptide BPC157 on regional serotonin synthesis in the rat brain: alpha-methyl-L-tryptophan autoradiographic measurements. Life Sci. 2004 Dec 3;76(3):345-57. doi: 10.1016/j.lfs.2004.08.010
167. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, i sur. The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants. J Physiol Paris. 2000 Mar-Apr;94(2):99-104. doi: 10.1016/s0928-4257(00)00148-0
168. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Marovic A, i sur. The effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on development of tolerance and physical dependence following repeated administration of diazepam. Chin J Physiol. 1999 Sep 30;42(3):171-9
169. Boban Blagaic A, Turcic P, Blagaic V, Dubovecak M, Jelovac N, Zemba M, i sur. Gastric pentadecapeptide BPC 157 counteracts morphine-induced analgesia in mice. J Physiol Pharmacol. 2009 Dec;60 Suppl 7:177-81
170. Bilic I, Zoricic I, Anic T, Separovic J, Stancic-Rokotov D, Mikus D, i sur. Haloperidol-stomach lesions attenuation by pentadecapeptide BPC 157, omeprazole, bromocriptine, but not atropine, lansoprazole, pantoprazole, ranitidine, cimetidine and misoprostol in mice. Life Sci. 2001 Mar 9;68(16):1905-12. doi: 10.1016/s0024-3205(00)01025-0
171. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. Eur J Pharmacol. 1999 Aug 20;379(1):19-31. doi: 10.1016/s0014-2999(99)00486-0
172. Jelovac N, Sikirić P, Rucman R, Petek M, Perović D, Konjevoda P, i sur. A novel pentadecapeptide, BPC 157, blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. Biol Psychiatry. 1998 Apr 1;43(7):511-9. doi: 10.1016/s0006-3223(97)00277-1
173. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, I sur. Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157. J Physiol Paris. 2000 Mar-Apr;94(2):105-10. doi: 10.1016/s0928-4257(00)00147-9
174. Jembrek MJ, Vlainic J. GABA Receptors: Pharmacological Potential and Pitfalls. Curr Pharm Des. 2015;21(34):4943-59. doi: 10.2174/1381612821666150914121624
175. Perić D, Strac DS, Jembrek MJ, Vlainić J. Allosteric uncoupling and up-regulation of benzodiazepine and GABA recognition sites following chronic diazepam treatment of HEK 293 cells stably transfected with alpha1beta2gamma2S subunits of GABA (A)

receptors. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2007 May;375(3):177-87. doi: 10.1007/s00210-007-0152-z

176. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, Separovic J, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, i sur. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent, attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. J Physiol Paris. 2001 Jan-Dec;95(1-6):295-301. doi: 10.1016/s0928-4257(01)00041-9

177. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, Separovic J, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, i sur. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent, attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. J Physiol Paris. 2001 Jan-Dec;95(1-6):295-301. doi: 10.1016/s0928-4257(01)00041-9

178. Zemba M, Zemba Cilic A, Balenovic I, i sur. BPC 157 antagonized the general anesthetic potency of thiopental and reduced prolongation of anesthesia time induced by L-NAME/ thiopental combination. FASEB J 2014;28:1061-3

179. Zemba M, Cilic AZ, Balenovic I, Cilic M, Radic B, Suran J, i sur. BPC 157 antagonized the general anaesthetic potency of thiopental and reduced prolongation of anaesthesia induced by L-NAME/thiopental combination. Inflammopharmacology. 2015 Dec;23(6):329-36. doi: 10.1007/s10787-015-0249-9

180. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, Kolenc D, Brcic L, Radic B, i sur. Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly, gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats. Eur J Pharmacol. 2011 Sep 30;667(1-3):322-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.05.038

181. Ilic S, Drmic D, Franjic S, Kolenc D, Coric M, Brcic L, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions. Life Sci. 2011 Mar 14;88(11-12):535-42. doi: 10.1016/j.lfs.2011.01.015

182. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, Kolenc D, Coric M, Brcic L, i sur. High hepatotoxic dose of paracetamol produces generalized convulsions and brain damage in rats. A counteraction with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736). J Physiol Pharmacol. 2010 Apr;61(2):241-50

183. Ilic S, Brcic I, Mester M, Filipovic M, Sever M, Klicek R, i sur. Over-dose insulin and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Attenuated gastric ulcers, seizures, brain lesions, hepatomegaly, fatty liver, breakdown of liver glycogen, profound hypoglycemia and calcification in rats. J Physiol Pharmacol. 2009 Dec;60 Suppl 7:107-14

184. Chang C-H, Tsai W-C, Lin M-S. The promoting effect of pentadecapeptide BPC 157 on tendon healing involves tendon outgrowth, cell survival, and cell migration. Journal of Applied Physiology. 2011 Mar;110(3):774–80. doi: 10.1152/japplphysiol.00945.2010
185. Novinscak T, Brcic L, Staresinic M, Jukic I, Radic B, Pevec D, i sur. Gastric pentadecapeptide BPC 157 as an effective therapy for muscle crush injury in the rat. Surg Today. 2008;38(8):716-25. doi: 10.1007/s00595-007-3706-2
186. Gwyer D, Wragg NM, Wilson SL. Gastric pentadecapeptide body protection compound BPC 157 and its role in accelerating musculoskeletal soft tissue healing. Cell Tissue Res. 2019 Aug;377(2):153-159. doi: 10.1007/s00441-019-03016-8
187. Tudor M, Jandric I, Marovic A, Gjurasin M, Perovic D, Radic B, i sur. Traumatic brain injury in mice and pentadecapeptide BPC 157 effect. Regul Pept. 2010 Feb 25;160(1-3):26-32. doi: 10.1016/j.regpep.2009.11.012
188. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L, i sur. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. Regul Pept. 2010 Feb 25;160(1-3):33-41. doi: 10.1016/j.regpep.2009.11.005
189. Perovic D, Kolenc D, Bilic V, Somun N, Drmic D, Elabjer E, i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 can improve the healing course of spinal cord injury and lead to functional recovery in rats. J Orthop Surg Res. 2019 Jul 2;14(1):199. doi: 10.1186/s13018-019-1242-6
190. Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Sever M, Klicek R, Radic B, i sur. BPC 157 and Standard Angiogenic Growth Factors. Gastrointestinal Tract Healing, Lessons from Tendon, Ligament, Muscle and Bone Healing. Curr Pharm Des. 2018;24(18):1972-1989. doi: 10.2174/1381612824666180712110447
191. Duzel A, Vlainic J, Antunovic M, Malekinusic D, Vrdoljak B, Samara M, i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in the treatment of colitis and ischemia and reperfusion in rats: New insights. World J Gastroenterol. 2017 Dec 28;23(48):8465-8488. doi: 10.3748/wjg.v23.i48.8465
192. Amic F, Drmic D, Bilic Z, Krezic I, Zizek H, Peklic M, i sur. Bypassing major venous occlusion and duodenal lesions in rats, and therapy with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157, L-NAME and L-arginine. World J Gastroenterol. 2018 Dec 21;24(47):5366-5378. doi: 10.3748/wjg.v24.i47.5366
193. Drmic D, Samara M, Vidovic T, Malekinusic D, Antunovic M, Vrdoljak B, i sur. Counteraction of perforated cecum lesions in rats: Effects of pentadecapeptide BPC 157,

L-NAME and L-arginine. World J Gastroenterol. 2018 Dec 28;24(48):5462-5476. doi: 10.3748/wjg.v24.i48.5462

194. Medvidovic-Grubisic M, Stambolija V, Kolenc D, Katancic J, Murselovic T, Plestina-Borjan I, i sur. Hypermagnesemia disturbances in rats, NO-related: pentadecapeptide BPC 157 abrogates, L-NAME and L-arginine worsen. Inflammopharmacology. 2017 Aug;25(4):439-449. doi: 10.1007/s10787-017-0323-6

195. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. J R Soc Med. 1999 Apr;92(4):164-9. doi: 10.1177/014107689909200402

196. Vukojević J, Siroglavić M, Kašnik K, Kralj T, Stanćić D, Kokot A, i sur. Rat inferior caval vein (ICV) ligature and particular new insights with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Vascul Pharmacol. 2018 Jul;106:54-66. doi: 10.1016/j.vph.2018.02.010

197. Stupnisek M, Kokot A, Drmic D, Hrelec Patrlj M, Zenko Sever A, Kolenc D, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 Reduces Bleeding and Thrombocytopenia after Amputation in Rats Treated with Heparin, Warfarin, L-NAME and L-Arginine. PLoS One. 2015 Apr 21;10(4):e0123454. doi: 10.1371/journal.pone.0123454

198. Whittle BJ, Boughton-Smith NK, Moncada S. Biosynthesis and role of the endothelium-derived vasodilator, nitric oxide, in the gastric mucosa. Ann N Y Acad Sci. 1992;664:126-39. doi: 10.1111/j.1749-6632.1992.tb39755.x

199. Sikirić P, Seiwerth S, Grabarević Z, Rucman R, Petek M, Jagić V, i sur. The influence of a novel pentadecapeptide, BPC 157, on N(G)-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effects on stomach mucosa integrity and blood pressure. Eur J Pharmacol. 1997 Jul 30;332(1):23-33. doi: 10.1016/s0014-2999(97)01033-9

200. Becejac T, Cesarec V, Drmic D, Hirsl D, Madzarac G, Djakovic Z, i sur. An endogeous defensive concept, renewed cytoprotection/adaptive cytoprotection: intra(per)-oral/intragastric strong alcohol in rat. Involvement of pentadecapeptide BPC 157 and nitric oxide system. J Physiol Pharmacol. 2018 Jun;69(3). doi: 10.26402/jpp.2018.3.11

201. Lovric-Bencic M, Sikiric P, Hanzevacki JS, Seiwerth S, Rogic D, Kusec V, i sur. Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC157 in rat and mouse. J Pharmacol Sci. 2004 May;95(1):19-26. doi: 10.1254/jphs.95.19

202. Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, Simonji K, Hanzevacki JS, Barisic I, i sur. Inhibition of methyldigoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC 157: a

relation with NO-system. Regul Pept. 2009 Aug 7;156(1-3):83-9. doi: 10.1016/j.regpep.2009.05.008

203. Balenovic D, Barisic I. Mortal Furosemide-Hypokalemia-Disturbances in Rats NO-System Related Shorten Survival by L-NAME. Therapy Benefit with BPC 157 Peptide More Than With L-Arginine. Journal of Clinical & Experimental Cardiology 2012;03(07). doi.org/10.4172/2155-9880.1000201

204. Barisic I, Balenovic D, Klicek R, Radic B, Nikitovic B, Drmic D, i sur. Mortal hyperkalemia disturbances in rats are NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC 157. Regul Pept. 2013 Feb 10;181:50-66. doi: 10.1016/j.regpep.2012.12.007

205. Klicek R, Sever M, Radic B, Drmic D, Kocman I, Zoricic I, i sur. Pentadecapeptide BPC 157, in clinical trials as a therapy for inflammatory bowel disease (PL14736), is effective in the healing of colocutaneous fistulas in rats: role of the nitric oxide-system. J Pharmacol Sci. 2008 Sep;108(1):7-17. doi: 10.1254/jphs.fp0072161

206. Cesarec V, Becejac T, Misic M, Djakovic Z, Olujic D, Drmic D, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy. Eur J Pharmacol. 2013 Feb 15;701(1-3):203-12. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.11.055

207. Huang T, Zhang K, Sun L, Xue X, Zhang C, Shu Z, i sur. Body protective compound-157 enhances alkali-burn wound healing in vivo and promotes proliferation, migration, and angiogenesis in vitro. Drug Des Devel Ther. 2015 Apr 30;9:2485-99. doi: 10.2147/DDDT.S82030

208. Laruelle M, Abi-Dargham A. Dopamine as the wind of the psychotic fire: new evidence from brain imaging studies. J Psychopharmacol. 1999 Dec;13(4):358-71. doi: 10.1177/026988119901300405

209. Seeman P, Kapur S. Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Jul 5;97(14):7673-5. doi: 10.1073/pnas.97.14.7673

210. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. Neurosci Lett. 1980 Dec;20(3):379-82. doi: 10.1016/0304-3940(80)90178-0

211. Carlsson A, Waters N, Waters S, Carlsson ML. Network interactions in schizophrenia - therapeutic implications. Brain Res Brain Res Rev. 2000 Mar;31(2-3):342-9. doi: 10.1016/s0165-0173(99)00050-8

212. Javitt DC. Glutamate receptors and schizophrenia: opportunities and caveats. Mol Psychiatry. 1996 Mar;1(1):16-7

213.Jentsch JD, Roth RH. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. Neuropsychopharmacology. 1999 Mar;20(3):201-25. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00060-8

214.Swerdlow NR, Braff DL, Bakshi VP. An Animal Model of Sensorimotor Gating Deficits in Schizophrenia Predicts Antipsychotic Drug Action. Handbook of Experimental Pharmacology 2010;289–312. doi.org/10.1007/978-3-642-61007-3_10

215.Kapur S, Seeman P. NMDA receptor antagonists ketamine and PCP have direct effects on the dopamine D(2) and serotonin 5-HT(2)receptors-implications for models of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2002;7(8):837-44. doi: 10.1038/sj.mp.4001093

216.Kari HP, Davidson PP, Kohl HH, Kochhar MM. Effects of ketamine on brain monoamine levels in rats. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1978 Jun;20(3):475-88

217.Glisson SN, el-Etr AA, Bloor BC. The effect of ketamine upon norepinephrine and dopamine levels in rabbit brain parts. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1976 Nov;295(2):149-52. doi: 10.1007/BF00499447

218.Swerdlow NR, Bakshi V, Waikar M. Seroquel, clozapine and chlorpromazine restore sensorimotor gating in ketamine-treated rats. Psychopharmacology (Berl). 1998 Nov;140(1):75-80. doi: 10.1007/s002130050741

219.Verma A, Kulkarni SK. Modulation of MK-801 response by dopaminergic agents in mice. Psychopharmacology (Berl). 1992;107(2-3):431-6. doi: 10.1007/BF02245171

220.Giannini AJ, Eighan MS, Loiselle RH. Comparison of haloperidol and chlorpromazine in the treatment of phencyclidine psychosis. J Clin Pharmacol. 1984 Apr;24(4):202-4. doi: 10.1002/j.1552-4604.1984.tb01831.x

221.Giannini AJ, Nageotte C, Loiselle RH. Comparison of chlorpromazine, haloperidol and pimozide in the treatment of phencyclidine psychosis: DA-2 receptor specificity. J Toxicol Clin Toxicol. 1984-1985;22(6):573-9. doi: 10.3109/15563658408992586

222.Giannini AJ, Price WA, Loiselle RH. Treatment of phenylcyclohexylpyrrolidine (PHP) psychosis with haloperidol. J Toxicol Clin Toxicol. 1985;23(2-3):185-9. doi: 10.3109/15563658508990627

223.Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Joly F, Bervoets K, Rivet J, i sur. Contrasting mechanisms of action and sensitivity to antipsychotics of phencyclidine versus amphetamine: importance of nucleus accumbens 5-HT2A sites for PCP-induced locomotion in the rat. Eur J Neurosci. 1999 Dec;11(12):4419-32. doi: 10.1046/j.1460-9568.1999.00858.x

224. Yamada S, Harano M, Annoh N. Involvement of serotonin 2A receptors in phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle in rats. Biol Psychiatry. 1999 Sep 15;46(6):832-8. doi: 10.1016/s0006-3223(98)00356-4
225. Laruelle M. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. Q J Nucl Med. 1998 Sep;42(3):211-21
226. Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, i sur. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Aug 20;93(17):9235-40. doi: 10.1073/pnas.93.17.9235
227. Laruelle M, Abi-Dargham A, Gil R. Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. Biol Psychiatry. 1999 Jul 1;46(1):56-72. doi: 10.1016/s0006-3223(99)00067-0
228. Kegeles LS, Martinez D, Kochan LD, Hwang DR, Huang Y, Mawlawi O, i sur. NMDA antagonist effects on striatal dopamine release: positron emission tomography studies in humans. Synapse. 2002 Jan;43(1):19-29. doi: 10.1002/syn.10010
229. Curran HV, Monaghan L. In and out of the K-hole: a comparison of the acute and residual effects of ketamine in frequent and infrequent ketamine users. Addiction. 2001 May;96(5):749-60. doi: 10.1046/j.1360-0443.2001.96574910.x
230. Kilts CD. The changing roles and targets for animal models of schizophrenia. Biol Psychiatry. 2001 Dec 1;50(11):845-55. doi: 10.1016/s0006-3223(01)01286-0
231. Jenner P. Stimulants: Neurochemical, Behavioural, and Clinical Perspectives. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry 1985 Mar 1;48(3):293–293. doi.org/10.1136/jnnp.48.3.293
232. Segal DS, Geyer MA, Schuckit MA. Stimulant-induced psychosis: an evaluation of animal methods. Essays Neurochem Neuropharmacol. 1981;5:95-129
233. Iversen SD. Neural substrates mediating amphetamine responses. U: Ellinwood Jr EH, Kilbey MM, ur. Advances in behavioural biology. Cocaine and other stimulants New York: Plenum Press; 1977. Str.31-45
234. Borison RL, Havdala HS, Diamond BI. Chronic phenylethylamine stereotypy in rats: a new animal model for schizophrenia? Life Sci. 1977 Jul 1;21(1):117-22. doi: 10.1016/0024-3205(77)90431-3
235. Kitanaka J, Kitanaka N, Tatsuta T, Miyoshi A, Koumoto A, Tanaka K, i sur. Pretreatment with l-histidine produces a shift from methamphetamine-induced stereotypical biting to

persistent locomotion in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2010 Jan;94(3):464-70. doi: 10.1016/j.pbb.2009.10.009

236. Costall B, Naylor RJ. Mesolimbic involvement with behavioural effects indicating antipsychotic activity. Eur J Pharmacol. 1974 Jun;27(1):46-58. doi: 10.1016/0014-2999(74)90201-5

237. Castellani S, Adams PM. Effects of dopaminergic drugs on phencyclidine-induced behavior in the rat. Neuropharmacology. 1981 Apr;20(4):371-4. doi: 10.1016/0028-3908(81)90011-3

238. Arguello PA, Gogos JA. A signaling pathway AKTing up in schizophrenia. J Clin Invest. 2008 Jun;118(6):2018-21. doi: 10.1172/JCI35931

239. Dimpfel W, Spüler M. Dizocilpine (MK-801), ketamine and phencyclidine: low doses affect brain field potentials in the freely moving rat in the same way as activation of dopaminergic transmission. Psychopharmacology (Berl). 1990;101(3):317-23. doi: 10.1007/BF02244048

240. Kuribara H, Asami T, Ida I. Characteristics of the ambulation-increasing effect of the noncompetitive NMDA antagonist MK-801 in mice: assessment by the coadministration with central-acting drugs. Jpn J Pharmacol. 1992 Jan;58(1):11-8. doi: 10.1254/jjp.58.11

241. Rao TS, Kim HS, Lehmann J. Selective activation of dopaminergic pathways in the mesocortex by compounds that act at the phencyclidine (PCP) binding site: tentative evidence for PCP recognition sites not coupled to N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors. Neuropharmacology. 1990 Mar;29(3):225-30. doi: 10.1016/0028-3908(90)90005-c

242. Carlsson M, Carlsson A. The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice. J Neural Transm. 1989;75(3):221-6. doi: 10.1007/BF01258633

243. Carlsson M, Svensson A. The non-competitive NMDA antagonists MK-801 and PCP, as well as the competitive NMDA antagonist SDZ EAA494 (D-CPPene), interact synergistically with clonidine to promote locomotion in monoamine-depleted mice. Life Sci. 1990;47(19):1729-36. doi: 10.1016/0024-3205(90)90346-s

244. Raffa RB, Ortegón ME, Robisch DM. In vivo demonstration of the enhancement of MK-801 by L-glutamate. Life Sci. 1989;44(21):1593-9. doi: 10.1016/0024-3205(89)90454-2

245. Lapin IP, Rogawski MA. Effects of D1 and D2 dopamine receptor antagonists and catecholamine depleting agents on the locomotor stimulation induced by dizocilpine in mice. Behav Brain Res. 1995 Oct;70(2):145-51. doi: 10.1016/0166-4328(95)80004-2

246.Ramoa AS, Alkondon M, Aracava Y, Irons J, Lunt GG, Deshpande SS, i sur. The anticonvulsant MK-801 interacts with peripheral and central nicotinic acetylcholine receptor ion channels. J Pharmacol Exp Ther. 1990 Jul;254(1):71-82

247.Kim HS, Rhee GS, Jung JY. Inhibition by noncompetitive NMDA receptor antagonists of apomorphine-induced climbing behavior in mice. Life Sci. 1996;58(17):1397-402. doi: 10.1016/0024-3205(96)00109-9

248.Baldessarini RJ, Kula NS, Walton KG. Behavioral effects of apomorphine and diisobutyrylapomorphine in the mouse. Psychopharmacology (Berl). 1977 Jun 6;53(1):45-53. doi: 10.1007/BF00426693

249.Protais P, Costentin J, Schwartz JC. Climbing behavior induced by apomorphine in mice: a simple test for the study of dopamine receptors in striatum. Psychopharmacology (Berl). 1976 Oct 20;50(1):1-6. doi: 10.1007/BF00634146

250.Ohno M, Arai I, Watanabe S. N-methyl-D-aspartate stimulates dopamine release through nitric oxide formation in the nucleus accumbens of rats. Brain Res. 1995 Nov 20;699(2):332-5. doi: 10.1016/0006-8993(95)01086-b

251.Lonart G, Johnson KM. Inhibitory effects of nitric oxide on the uptake of [3H]dopamine and [3H]glutamate by striatal synaptosomes. J Neurochem. 1994 Dec;63(6):2108-17. doi: 10.1046/j.1471-4159.1994.63062108.x

252.Pogun S, Baumann MH, Kuhar MJ. Nitric oxide inhibits [3H]dopamine uptake. Brain Res. 1994 Mar 28;641(1):83-91. doi: 10.1016/0006-8993(94)91818-x

253.Battisti JJ, Shreffler CB, Uretsky NJ. NMDA antagonists block expression of sensitization of amphetamine- and apomorphine-induced stereotypy. Pharmacol Biochem Behav. 2000 Oct;67(2):241-6. doi: 10.1016/s0091-3057(00)00324-5

254.Karler R, Calder LD, Chaudhry IA. Blockade of "reverse tolerance" to cocaine and amphetamine by MK-801. Life Sci. 1989;45(7):599-606. doi: 10.1016/0024-3205(89)90045-3

255.Hong JT, Kim HC, Kim HS. The role of nitric oxide on glutaminergic modulation of dopaminergic activation. Pharmacol Res. 2005 Oct;52(4):298-301. doi: 10.1016/j.phrs.2005.05.002

256.Kim HS, Park WK. Nitric oxide mediation of cocaine-induced dopaminergic behaviors: ambulation-accelerating activity, reverse tolerance and conditioned place preference in mice. J Pharmacol Exp Ther. 1995 Nov;275(2):551-7

257.Freedman R. Schizophrenia. Wood AJJ, editor. New England Journal of Medicine 2003 Oct 30;349(18):1738–49. doi.org/10.1056/nejmra035458

258.Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. Am J Psychiatry. 1991 Oct;148(10):1301-8. doi: 10.1176/ajp.148.10.1301

259.Malhotra AK, Pinals DA, Adler CM, Elman I, Clifton A, Pickar D, i sur. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. Neuropsychopharmacology. 1997 Sep;17(3):141-50. doi: 10.1016/S0893-133X(97)00036-5

260.Tricklebank MD, Singh L, Oles RJ. The behavioural effects of MK-801: a comparison with antagonists acting non-competitively and competitively at the NMDA receptor. Eur J Pharmacol. 1989 Aug 11;167(1):127-35. doi: 10.1016/0014-2999(89)90754-1

261.Verma A, Moghaddam B. NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. J Neurosci. 1996 Jan;16(1):373-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-01-00373.1996

262.de Lima MN, Laranja DC, Bromberg E. Pre- or post-training administration of the NMDA receptor blocker MK-801 impairs object recognition memory in rats. Behav Brain Res. 2005 Jan 6;156(1):139-43. doi: 10.1016/j.bbr.2004.05.016

263.Pitsikas N, Boultadakis A, Sakellaridis N. Effects of sub-anesthetic doses of ketamine on rats' spatial and non-spatial recognition memory. Neuroscience. 2008 Jun 23;154(2):454-60. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.04.001

264.Pitsikas N, Markou A. The metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 counteracted ketamine-and apomorphine-induced performance deficits in the object recognition task, but not object location task, in rats. Neuropharmacology. 2014 Oct;85:27-35. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.05.008

265.Calev A, Venables PH, Monk AF. Evidence for distinct verbal memory pathologies in severely and mildly disturbed schizophrenics. Schizophr Bull. 1983;9(2):247-64. doi: 10.1093/schbul/9.2.247

266.Edwards J, Jackson HJ, Pattison PE. Emotion recognition via facial expression and affective prosody in schizophrenia: a methodological review. Clin Psychol Rev. 2002 Jul;22(6):789-832. doi: 10.1016/s0272-7358(02)00130-7

267.Morgan CJ, Mofeez A, Brandner B. Acute effects of ketamine on memory systems and psychotic symptoms in healthy volunteers. Neuropsychopharmacology. 2004 Jan;29(1):208-18. doi: 10.1038/sj.npp.1300342

268.Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. Behav Brain Res. 1988 Nov 1;31(1):47-59. doi: 10.1016/0166-4328(88)90157-x

269. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. Eur J Pharmacol. 2003 Feb 28;463(1-3):3-33. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01272-x
270. Crawley JN. Exploratory behavior models of anxiety in mice. Neurosci Biobehav Rev. 1985 Spring;9(1):37-44. doi: 10.1016/0149-7634(85)90030-2
271. Thiel CM, Müller CP, Huston JP. High versus low reactivity to a novel environment: behavioural, pharmacological and neurochemical assessments. Neuroscience. 1999;93(1):243-51. doi: 10.1016/s0306-4522(99)00158-x
272. Antoniou K, Papathanasiou G, Panagis G. Individual responses to novelty predict qualitative differences in d-amphetamine-induced open field but not reward-related behaviors in rats. Neuroscience. 2004;123(3):613-23. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.10.009
273. Mazarati A, Shin D, Auvin S. Kindling epileptogenesis in immature rats leads to persistent depressive behavior. Epilepsy Behav. 2007 May;10(3):377-83. doi: 10.1016/j.yebeh.2007.02.001
274. Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. Schizophr Res. 2009 May;110(1-3):1-23. doi: 10.1016/j.schres.2009.03.005
275. Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. Neuropsychopharmacology. 2004 Nov;29(11):2007-17. doi: 10.1038/sj.npp.1300532
276. Pratt JA, Winchester C, Egerton A. Modelling prefrontal cortex deficits in schizophrenia: implications for treatment. Br J Pharmacol. 2008 Mar;153 Suppl 1(Suppl 1):S465-70. doi: 10.1038/bjp.2008.24
277. Neill JC, Barnes S, Cook S, Grayson B, Idris NF, McLean SL, i sur. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. Pharmacol Ther. 2010 Dec;128(3):419-32. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.07.004
278. Barnes SA, Der-Avakian A, Markou A. Anhedonia, avolition, and anticipatory deficits: assessments in animals with relevance to the negative symptoms of schizophrenia. Eur Neuropsychopharmacol. 2014 May;24(5):744-58. doi: 10.1016/j.euroneuro.2013.10.001
279. Koros E, Rosenbrock H, Birk G. The selective mGlu5 receptor antagonist MTEP, similar to NMDA receptor antagonists, induces social isolation in rats. Neuropsychopharmacology. 2007 Mar;32(3):562-76. doi: 10.1038/sj.npp.1301133

280. Georgiadou G, Grivas V, Tarantilis PA. Crocins, the active constituents of Crocus Sativus L., counteracted ketamine-induced behavioural deficits in rats. Psychopharmacology (Berl). 2014 Feb;231(4):717-26. doi: 10.1007/s00213-013-3293-4
281. Trevlopoulou A, Touzlatzi N, Pitsikas N. The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behaviour in rats. Psychopharmacology (Berl). 2016 Mar;233(6):1045-54. doi: 10.1007/s00213-015-4181-x
282. Silvestre JS, Nadal R, Pallarés M. Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. Depress Anxiety. 1997;5(1):29-33
283. Hoffman DC, Donovan H. Catalepsy as a rodent model for detecting antipsychotic drugs with extrapyramidal side effect liability. Psychopharmacology (Berl). 1995 Jul;120(2):128-33. doi: 10.1007/BF02246184
284. Honma T, Fukushima H. Correlation between catalepsy and dopamine decrease in the rat striatum induced by neuroleptics. Neuropharmacology. 1976 Oct;15(10):601-7. doi: 10.1016/0028-3908(76)90015-0
285. Honma T, Fukushima H. Effects of bilateral lesions in the striatum or nucleus accumbens on the cataleptogenic activity of neuroleptics in rats. Jpn J Pharmacol. 1978 Apr;28(2):231-8. doi: 10.1254/jjp.28.231
286. Calderon SF, Sanberg PR, Norman AB. Quinolinic acid lesions of rat striatum abolish D1- and D2-dopamine receptor-mediated catalepsy. Brain Res. 1988 May 31;450(1-2):403-7. doi: 10.1016/0006-8993(88)91584-3
287. Costall B, Naylor RJ. On catalepsy and catatonia and the predictability of the catalepsy test for neuroleptic activity. Psychopharmacologia. 1974 Jan 14;34(3):233-41. doi: 10.1007/BF00421964
288. Bitter I, Volavka J, Scheurer J. The concept of the neuroleptic threshold: an update. J Clin Psychopharmacol. 1991 Feb;11(1):28-33
289. McEvoy JP. The neuroleptic threshold as a marker of minimum effective neuroleptic dose. Compr Psychiatry. 1986 Jul-Aug;27(4):327-35. doi: 10.1016/0010-440x(86)90008-8
290. Stahl SM, Mignon L, Meyer JM. Which comes first: atypical antipsychotic treatment or cardiometabolic risk? Acta Psychiatr Scand. 2009 Mar;119(3):171-9. doi: 10.1111/j.1600-0447.2008.01334.x

291. Leadbetter R, Shutty M, Pavalonis D. Clozapine-induced weight gain: prevalence and clinical relevance. Am J Psychiatry. 1992 Jan;149(1):68-72. doi: 10.1176/ajp.149.1.68
292. Meltzer HY, Perry E, Jayathilake K. Clozapine-induced weight gain predicts improvement in psychopathology. Schizophr Res. 2003 Jan 1;59(1):19-27. doi: 10.1016/s0920-9964(01)00326-7
293. Czobor P, Volavka J, Sheitman B, Lindenmayer JP, Citrome L, McEvoy J, i sur. Antipsychotic-induced weight gain and therapeutic response: a differential association. J Clin Psychopharmacol. 2002 Jun;22(3):244-51. doi: 10.1097/00004714-200206000-00003
294. Gupta S, Droney T, Al-Samarrai S. Olanzapine: weight gain and therapeutic efficacy. J Clin Psychopharmacol. 1999 Jun;19(3):273-5. doi: 10.1097/00004714-199906000-00014
295. Jones CA, Watson DJ, Fone KC. Animal models of schizophrenia. Br J Pharmacol. 2011 Oct;164(4):1162-94. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x
296. Basson BR, Kinon BJ, Taylor CC. Factors influencing acute weight change in patients with schizophrenia treated with olanzapine, haloperidol, or risperidone. J Clin Psychiatry. 2001 Apr;62(4):231-8. doi: 10.4088/jcp.v62n0404
297. Nash AI. Crosstalk between insulin and dopamine signaling: A basis for the metabolic effects of antipsychotic drugs. J Chem Neuroanat. 2017 Oct;83-84:59-68. doi: 10.1016/j.jchemneu.2016.07.010
298. Kowalchuk C, Teo C, Wilson V, Chintoh A, Lam L, Agarwal SM, i sur. In male rats, the ability of central insulin to suppress glucose production is impaired by olanzapine, whereas glucose uptake is left intact. J Psychiatry Neurosci. 2017 Nov;42(6):424-431. doi: 10.1503/jpn.170092
299. Best L, Yates AP, Reynolds GP. Actions of antipsychotic drugs on pancreatic beta-cell function: contrasting effects of clozapine and haloperidol. J Psychopharmacol. 2005 Nov;19(6):597-601. doi: 10.1177/0269881105056641
300. Heinrichs RW, Zakzanis KK. Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. Neuropsychology. 1998 Jul;12(3):426-45. doi: 10.1037//0894-4105.12.3.426
301. Nielsen RE, Levander S, Kjaersdam Telléus G. Second-generation antipsychotic effect on cognition in patients with schizophrenia--a meta-analysis of randomized clinical trials. Acta Psychiatr Scand. 2015 Mar;131(3):185-96. doi: 10.1111/acps.12374

302. Laruelle M. The role of endogenous sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: implications from recent brain imaging studies. Brain Res Brain Res Rev. 2000 Mar;31(2-3):371-84. doi: 10.1016/s0165-0173(99)00054-5
303. Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Rosenblatt W, Zea-Ponce Y, Zoghbi SS, i sur. SPECT imaging of striatal dopamine release after amphetamine challenge. J Nucl Med. 1995 Jul;36(7):1182-90
304. Lieberman JA, Sheitman BB, Kinon BJ. Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. Neuropsychopharmacology. 1997 Oct;17(4):205-29. doi: 10.1016/S0893-133X(97)00045-6
305. Kalivas PW, Stewart J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. Brain Res Brain Res Rev. 1991 Sep-Dec;16(3):223-44. doi: 10.1016/0165-0173(91)90007-u
306. Kalivas PW, Sorg BA, Hooks MS. The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. Behav Pharmacol. 1993;4(4):315-334
307. Paulson PE, Camp DM, Robinson TE. Time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. Psychopharmacology (Berl). 1991;103(4):480-92. doi: 10.1007/BF02244248
308. McGlashan TH. Early detection and intervention of schizophrenia: rationale and research. Br J Psychiatry Suppl. 1998;172(33):3-6
309. Yung AR, McGorry PD, McFarlane CA. Monitoring and care of young people at incipient risk of psychosis. Schizophr Bull. 1996;22(2):283-303. doi: 10.1093/schbul/22.2.283
310. Cornblatt B, Lencz T, Obuchowski M. The schizophrenia prodrome: treatment and high-risk perspectives. Schizophr Res. 2002 Mar 1;54(1-2):177-86. doi: 10.1016/s0920-9964(01)00365-6
311. McGlashan TH. Psychosis treatment prior to psychosis onset: ethical issues. Schizophr Res. 2001 Aug 1;51(1):47-54. doi: 10.1016/s0920-9964(01)00238-9
312. Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. Arch Gen Psychiatry. 1990 Feb;47(2):181-8. doi: 10.1001/archpsyc.1990.01810140081011
313. Swerdlow NR, Martinez ZA, Hanlon FM, Platten A, Farid M, Auerbach P, i sur. Toward understanding the biology of a complex phenotype: rat strain and substrain differences in

the sensorimotor gating-disruptive effects of dopamine agonists. J Neurosci. 2000 Jun 1;20(11):4325-36. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-11-04325.2000

314. Tenn CC, Fletcher PJ, Kapur S. Amphetamine-sensitized animals show a sensorimotor gating and neurochemical abnormality similar to that of schizophrenia. Schizophr Res. 2003 Nov 15;64(2-3):103-14. doi: 10.1016/s0920-9964(03)00009-4

315. Tenn CC, Fletcher PJ, Kapur S. A putative animal model of the "prodromal" state of schizophrenia. Biol Psychiatry. 2005 Mar 15;57(6):586-93. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.12.013

316. Moore H, Grace AA. A role for electrotonic coupling in the striatum in the expression of dopamine receptor-mediated stereotypies. Neuropsychopharmacology. 2002 Dec;27(6):980-92. doi: 10.1016/S0893-133X(02)00383-4

317. Naylor RJ, Olley JE. Modification of the behavioural changes induced by amphetamine in the rat by lesions in the caudate nucleus, the caudate-putamen and globus pallidus. Neuropharmacology. 1972 Jan;11(1):91-9. doi: 10.1016/0028-3908(72)90060-3

318. Tieppo CA, Ferreira FS, Sassatani AS. Opposite modulation of apomorphine- or amphetamine-induced stereotypy by antagonists of CCK receptors. Eur J Pharmacol. 2000 Jan 10;387(2):189-96. doi: 10.1016/s0014-2999(99)00782-7

319. Canales JJ, Graybiel AM. A measure of striatal function predicts motor stereotypy. Nat Neurosci. 2000 Apr;3(4):377-83. doi: 10.1038/73949

320. Andiné P, Widermark N, Axelsson R, Nyberg G, Olofsson U, Mårtensson E, i sur. Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis. J Pharmacol Exp Ther. 1999 Sep;290(3):1393-408.

321. Boultadakis A, Georgiadou G, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on different memory components as assessed in the object recognition task in the rat. Behav Brain Res. 2010 Feb 11;207(1):208-14. doi: 10.1016/j.bbr.2009.10.007

322. Bruno O, Fedele E, Prickaerts J, Parker LA, Canepa E, Brullo C, i sur. GEBR-7b, a novel PDE4D selective inhibitor that improves memory in rodents at non-emetic doses. Br J Pharmacol. 2011 Dec;164(8):2054-63. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01524.x

323. Cavoy A, Delacour J. Spatial but not object recognition is impaired by aging in rats. Physiol Behav. 1993 Mar;53(3):527-30. doi: 10.1016/0031-9384(93)90148-9

324. Verma A, Moghaddam B. NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. J Neurosci. 1996 Jan;16(1):373-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-01-00373.1996

325. Arnt J. Differential effects of classical and newer antipsychotics on the hypermotility induced by two dose levels of D-amphetamine. Eur J Pharmacol. 1995 Sep 5;283(1-3):55-62. doi: 10.1016/0014-2999(95)00292-s
326. Grivas V, Markou A, Pitsikas N. The metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 induces anxiety-like behavior at the highest dose tested in two rat models of anxiety. Eur J Pharmacol. 2013 Sep 5;715(1-3):105-10. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.05.048
327. Bath KG, Chuang J, Spencer-Segal JL, Amso D, Altemus M, McEwen BS, i sur. Variant brain-derived neurotrophic factor (Valine66Methionine) polymorphism contributes to developmental and estrous stage-specific expression of anxiety-like behavior in female mice. Biol Psychiatry. 2012 Sep 15;72(6):499-504. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.03.032
328. Zoupa E, Gravanis A, Pitsikas N. The novel dehydroepiandrosterone (DHEA) derivative BNN27 counteracts behavioural deficits induced by the NMDA receptor antagonist ketamine in rats. Neuropharmacology. 2019 Jun;151:74-83. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.04.001
329. Engelhardt KA, Marchetta P, Schwarting RKW. Haloperidol-induced catalepsy is ameliorated by deep brain stimulation of the inferior colliculus. Sci Rep. 2018 Feb 2;8(1):2216. doi: 10.1038/s41598-018-19990-y
330. Morelli M, Di Chiara G. Catalepsy induced by SCH 23390 in rats. Eur J Pharmacol. 1985 Nov 5;117(2):179-85. doi: 10.1016/0014-2999(85)90602-8
331. Vranic M, Miles P, Rastogi K, Yamatani K, Shi Z, Lickley L, i sur. Effect of stress on glucoregulation in physiology and diabetes. Adv Exp Med Biol. 1991;291:161-83. doi: 10.1007/978-1-4684-5931-9_13
332. Boyda HN, Procyshyn RM, Asiri Y, Wu C, Wang CK, Lo R, i sur. Antidiabetic-drug combination treatment for glucose intolerance in adult female rats treated acutely with olanzapine. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2014 Jan 3;48:170-6. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.10.006
333. Beguinot F, Nigro C. Measurement of glucose homeostasis in vivo: glucose and insulin tolerance tests. Methods Mol Biol. 2012;933:219-28. doi: 10.1007/978-1-62703-068-7_14
334. Ellenbroek BA, Peeters BW, Honig WM. The paw test: a behavioural paradigm for differentiating between classical and atypical neuroleptic drugs. Psychopharmacology (Berl). 1987;93(3):343-8. doi: 10.1007/BF00187254

335.Campbell MJ, Machin D. Medicinska statistika, sažet pristup. 3. izdanje, Wiley, Chichester, 100.

336.Sikiric P, Hahm KB, Blagaic AB, Tvrdeic A, Pavlov KH, Petrovic A, i sur. Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157, Robert's Stomach Cytoprotection/Adaptive Cytoprotection/Organoprotection, and Selye's Stress Coping Response: Progress, Achievements, and the Future. Gut Liver. 2020 Mar 15;14(2):153-167. doi: 10.5009/gnl18490

337.Kang EA, Han YM, An JM, Park YJ, Sikiric P, Kim DH, i sur. BPC157 as Potential Agent Rescuing from Cancer Cachexia. Curr Pharm Des. 2018;24(18):1947-1956. doi: 10.2174/1381612824666180614082950

338.Sikiric P, Rucman R, Turkovic B, Sever M, Klicek R, Radic B, i sur. Novel Cytoprotective Mediator, Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157. Vascular Recruitment and Gastrointestinal Tract Healing. Curr Pharm Des. 2018;24(18):1990-2001. doi: 10.2174/1381612824666180608101119

339.Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Drmic D, Stupnisek M, Kokot A, i sur. Stress in Gastrointestinal Tract and Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157. Finally, do we have a Solution? Curr Pharm Des. 2017;23(27):4012-4028. doi: 10.2174/1381612823666170220163219

340.Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Kolenc D, Vuletic LB, Drmic D, i sur. Brain-gut Axis and Pentadecapeptide BPC 157: Theoretical and Practical Implications. Curr Neuropharmacol. 2016;14(8):857-865. doi: 10.2174/1570159x13666160502153022

341.MacKay M, Cetin M, Baker G. Modulation of Central Nitric Oxide as a Therapeutic Strategy for Schizophrenia. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology 2010 Jun;20(2):115–9. doi.org/10.1080/10177833.2010.11790644

342.Pitsikas N. The Role of Nitric Oxide Synthase Inhibitors in Schizophrenia. Curr Med Chem. 2016;23(24):2692-2705. doi: 10.2174/0929867323666160812151054

343.Koçyiğit Y, Yoca G, Karahan S. Şizofrenide Mevcut Tedaviye Yardımcı Olarak L-Arjinin Eklenmesi: Rastgele, Çift Kör, Çapraz Geçişli, Plasebo Kontrollü Çalışma [L-Arginine Add-On Treatment for Schizophrenia: A Randomized,Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study]. Turk Psikiyatri Derg. 2018 Fall;29(3):147-153.

344.Celik T, Zaglí U, Kayír H. Nitric oxide synthase inhibition blocks amphetamine-induced locomotor activity in mice. Drug Alcohol Depend. 1999 Sep 1;56(2):109-13. doi: 10.1016/s0376-8716(99)00031-9

345. Przewłocka B, Turchan J, Machelska H. Nitric oxide synthase inhibitor L-NAME prevents amphetamine-induced prodynorphin gene expression in the rat. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1996 Oct;20(7):1229-37. doi: 10.1016/s0278-5846(96)00108-x
346. Gupta M, Balakrishnan S, Pandhi P. Role of nitric oxide in experimental models of psychosis in rats. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2001 Nov;23(9):497-500. doi: 10.1358/mf.2001.23.9.662138
347. Chan MH, Chien TH, Lee PY, Chen HH. Involvement of NO/cGMP pathway in toluene-induced locomotor hyperactivity in female rats. Psychopharmacology (Berl). 2004 Nov;176(3-4):435-9. doi: 10.1007/s00213-004-1900-0
348. Kokot A, Zlatar M, Stupnisek M, Drmic D, Radic R, Vcev A, i sur. NO system dependence of atropine-induced mydriasis and L-NAME- and L-arginine-induced miosis: Reversal by the pentadecapeptide BPC 157 in rats and guinea pigs. Eur J Pharmacol. 2016 Jan 15;771:211-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.12.016
349. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991 Jun;43(2):109-42.
350. Salum C, Issy AC, Brandão ML. Nitric oxide modulates dopaminergic regulation of prepulse inhibition in the basolateral amygdala. J Psychopharmacol. 2011 Dec;25(12):1639-48. doi: 10.1177/0269881110379282
351. Abekawa T, Ohmori T, Honda M. Effect of low doses of L-NAME on methamphetamine-induced dopaminergic depletion in the rat striatum. J Neural Transm (Vienna). 2001;108(11):1219-30. doi: 10.1007/s007020100000
352. Abekawa T, Ohmori T, Koyama T. Effects of nitric oxide synthesis inhibition on methamphetamine-induced dopaminergic and serotonergic neurotoxicity in the rat brain. J Neural Transm (Vienna). 1996;103(6):671-80. doi: 10.1007/BF01271227
353. Collins SL, Edwards MA, Kantak KM. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on the discriminative stimulus effects of cocaine in rats. Psychopharmacology (Berl). 2001 Mar;154(3):261-73. doi: 10.1007/s002130000641
354. Rung JP, Carlsson A, Rydén Markinhuhta K. (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; a model for negative symptoms of schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005 Jun;29(5):827-32. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.03.004
355. Tenn CC, Kapur S, Fletcher PJ. Sensitization to amphetamine, but not phencyclidine, disrupts prepulse inhibition and latent inhibition. Psychopharmacology (Berl). 2005 Jul;180(2):366-76. doi: 10.1007/s00213-005-2253-z

356. Weng J, Zhang Y, Li H. Study on risk factors of extrapyramidal symptoms induced by antipsychotics and its correlation with symptoms of schizophrenia. Gen Psychiatr. 2019 Feb 23;32(1):e100026. doi: 10.1136/gpsych-2018-100026
357. Gu HS, Chen X, Zhang JW. Synthesis and biological evaluation of novel flavanone derivatives as potential antipsychotic agents. Chem Biol Drug Des. 2017 Mar;89(3):353-364. doi: 10.1111/cbdd.12843
358. Zheng LT, Hwang J, Ock J. The antipsychotic spiperone attenuates inflammatory response in cultured microglia via the reduction of proinflammatory cytokine expression and nitric oxide production. J Neurochem. 2008 Dec;107(5):1225-35. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05675.x
359. Kato T, Monji A, Hashioka S. Risperidone significantly inhibits interferon-gamma-induced microglial activation in vitro. Schizophr Res. 2007 May;92(1-3):108-15. doi: 10.1016/j.schres.2007.01.019
360. Chávez CE, Oyarzún JE, Avendaño BC, Mellado LA, Inostroza CA, Alvear TF, i sur. The Opening of Connexin 43 Hemichannels Alters Hippocampal Astrocyte Function and Neuronal Survival in Prenatally LPS-Exposed Adult Offspring. Front Cell Neurosci. 2019 Oct 11;13:460. doi: 10.3389/fncel.2019.00460
361. Ribeiro BM, do Carmo MR, Freire RS, Rocha NF, Borella VC, de Menezes AT, i sur. Evidences for a progressive microglial activation and increase in iNOS expression in rats submitted to a neurodevelopmental model of schizophrenia: reversal by clozapine. Schizophr Res. 2013 Dec;151(1-3):12-9. doi: 10.1016/j.schres.2013.10.040
362. Bian Q, Kato T, Monji A, Hashioka S, Mizoguchi Y, Horikawa H, i sur. The effect of atypical antipsychotics, perospirone, ziprasidone and quetiapine on microglial activation induced by interferon-gamma. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2008 Jan 1;32(1):42-8. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.06.031
363. Kato TA, Hyodo F, Yamato M. [Redox and microglia in the pathophysiology of schizophrenia]. Yakugaku Zasshi. 2015;135(5):739-43. Japanese. doi: 10.1248/yakushi.14-00235-4
364. Cunha AS, Matheus FC, Moretti M, Sampaio TB, Poli A, Santos DB, i sur. Agmatine attenuates reserpine-induced oral dyskinesia in mice: Role of oxidative stress, nitric oxide and glutamate NMDA receptors. Behav Brain Res. 2016 Oct 1;312:64-76. doi: 10.1016/j.bbr.2016.06.014

365. Campos F, Alfonso M, Vidal L. Mediation of glutamatergic receptors and nitric oxide on striatal dopamine release evoked by anatoxin-a. An in vivo microdialysis study. Eur J Pharmacol. 2006 Oct 24;548(1-3):90-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.07.044
366. Howes O, McCutcheon R, Stone J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. J Psychopharmacol. 2015 Feb;29(2):97-115. doi: 10.1177/0269881114563634
367. McCutcheon RA, Krystal JH, Howes OD. Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. World Psychiatry. 2020 Feb;19(1):15-33. doi: 10.1002/wps.20693
368. Bishnoi M, Chopra K, Kulkarni SK. Co-administration of nitric oxide (NO) donors prevents haloperidol-induced orofacial dyskinesia, oxidative damage and change in striatal dopamine levels. Pharmacol Biochem Behav. 2009 Jan;91(3):423-9. doi: 10.1016/j.pbb.2008.08.021
369. Morris BJ, Simpson CS, Mundell S. Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase: evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. Neuropharmacology. 1997 Nov-Dec;36(11-12):1589-99. doi: 10.1016/s0028-3908(97)00159-7
370. García-Álvarez L, Caso JR, García-Portilla MP, de la Fuente-Tomás L, González-Blanco L, Sáiz Martínez P, i sur. Regulation of inflammatory pathways in schizophrenia: A comparative study with bipolar disorder and healthy controls. Eur Psychiatry. 2018 Jan;47:50-59. doi: 10.1016/j.eurpsy.2017.09
371. MacDowell KS, Munarriz-Cuezva E, Caso JR, Madrigal JL, Zabala A, Meana JJ, i sur. Paliperidone reverts Toll-like receptor 3 signaling pathway activation and cognitive deficits in a maternal immune activation mouse model of schizophrenia. Neuropharmacology. 2017 Apr;116:196-207. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.12.025
372. Ganzinelli S, Borda E, Sterin-Borda L. Autoantibodies from schizophrenia patients induce cerebral cox-1/iNOS mRNA expression with NO/PGE2/MMP-3 production. Int J Neuropsychopharmacol. 2010 Apr;13(3):293-303. doi: 10.1017/S1461145709990770
373. Yoo S, Kim MY, Cho JY. Syk and Src-targeted anti-inflammatory activity of aripiprazole, an atypical antipsychotic. Biochem Pharmacol. 2018 Feb;148:1-12. doi: 10.1016/j.bcp.2017.12.006
374. Levkovitz Y, Levi U, Braw Y. Minocycline, a second-generation tetracycline, as a neuroprotective agent in an animal model of schizophrenia. Brain Res. 2007 Jun 18;1154:154-62. doi: 10.1016/j.brainres.2007.03.080

375.Zhang L, Zhao J. Profile of minocycline and its potential in the treatment of schizophrenia. Neuropsychiatr Dis Treat. 2014 Jun 17;10:1103-11. doi: 10.2147/NDT.S64236

376.Liu Y. Nitric oxide influences dopaminergic processes. Adv Neuroimmunol. 1996;6(3):259-64. doi: 10.1016/s0960-5428(96)00021-6

377.Holzer P, Lippe IT, Tabrizi AL. Dual excitatory and inhibitory effect of nitric oxide on peristalsis in the guinea pig intestine. J Pharmacol Exp Ther. 1997 Jan;280(1):154-61.

378.Ellis DZ, Nathanson JA, Sweadner KJ. Carbachol inhibits Na(+)-K(+)-ATPase activity in choroid plexus via stimulation of the NO/cGMP pathway. Am J Physiol Cell Physiol. 2000 Dec;279(6):C1685-93. doi: 10.1152/ajpcell.2000.279.6.C1685

379.Ellis DZ, Nathanson JA, Rabe J. Carbachol and nitric oxide inhibition of Na,K-ATPase activity in bovine ciliary processes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001 Oct;42(11):2625-31.

380.Strinic D, Belosic Halle Z, Luetic K, Nedic A, Petrovic I, Sucic M, i sur. BPC 157 counteracts QTc prolongation induced by haloperidol, fluphenazine, clozapine, olanzapine, quetiapine, sulpiride, and metoclopramide in rats. Life Sci. 2017 Oct 1;186:66-79. doi: 10.1016/j.lfs.2017.08.006

381.Belosic Halle Z, Vlainic J, Drmic D, Strinic D, Luetic K, Sucic M, i sur. Class side effects: decreased pressure in the lower oesophageal and the pyloric sphincters after the administration of dopamine antagonists, neuroleptics, anti-emetics, L-NAME, pentadecapeptide BPC 157 and L-arginine. Inflammopharmacology. 2017 May 17. doi: 10.1007/s10787-017-0358-8

382.Fujiyama F, Masuko S. Association of dopaminergic terminals and neurons releasing nitric oxide in the rat striatum: an electron microscopic study using NADPH-diaphorase histochemistry and tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. Brain Res Bull. 1996;40(2):121-7. doi: 10.1016/0361-9230(96)00035-4

383.Pires JG, Costa PG, Saraiva FP. Gender-related differences in the effects of nitric oxide donors on neuroleptic-induced catalepsy in mice. Braz J Med Biol Res. 2003 Feb;36(2):239-45. doi: 10.1590/s0100-879x2003000200012

384.Turkovic B, Sikiric P, Seiwerth S i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 studied for inflammatory bowel disease (PLD-116, PL147636, Pliva) induces nitric oxide synthesis, Gastroenterology 126 (2004) 287.

385.Krištofiková Z, Vrajová M, Sírová J, Valeš K, Petrásek T, Schönig K, i sur. N-Methyl-d-Aspartate Receptor - Nitric Oxide Synthase Pathway in the Cortex of Nogo-A-Deficient

Rats in Relation to Brain Laterality and Schizophrenia. Front Behav Neurosci. 2013 Aug 12;7:90. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00090

386. Vukojević J, Vrdoljak B, Malekinušić D, Siroglavić M, Milavić M, Kolenc D, i sur. The effect of pentadecapeptide BPC 157 on hippocampal ischemia/reperfusion injuries in rats. Brain Behav. 2020 Aug;10(8):e01726. doi: 10.1002/brb3.1726
387. Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. Prog Brain Res. 1990;85:119-46.
388. Mahar I, Bambico FR, Mechawar N. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. Neurosci Biobehav Rev. 2014 Jan;38:173-92. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.11.009
389. Field JR, Walker AG, Conn PJ. Targeting glutamate synapses in schizophrenia. Trends Mol Med. 2011 Dec;17(12):689-98. doi: 10.1016/j.molmed.2011.08.004
390. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. Annu Rev Physiol. 1995;57:683-706. doi: 10.1146/annurev.ph.57.030195.003343
391. Xu X, Russell T, Bazner J. NMDA receptor antagonist AP5 and nitric oxide synthase inhibitor 7-NI affect different phases of learning and memory in goldfish. Brain Res. 2001 Jan 19;889(1-2):274-7. doi: 10.1016/s0006-8993(00)03216-9
392. Myslivecek J, Barcal J, Hassmannová J. Interactions between nitric oxide and dopamine in inhibitory learning and memory in newborn rats. Neuroscience. 1997 Aug;79(3):659-69. doi: 10.1016/s0306-4522(97)00029-8
393. Yamada K, Noda Y, Nakayama S, Komori Y, Sugihara H, Hasegawa T, i sur. Role of nitric oxide in learning and memory and in monoamine metabolism in the rat brain. Br J Pharmacol. 1995 Jul;115(5):852-8. doi: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb15011.x
394. Boultadakis A, Georgiadou G, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on different memory components as assessed in the object recognition task in the rat. Behav Brain Res. 2010 Feb 11;207(1):208-14. doi: 10.1016/j.bbr.2009.10.007
395. Pitsikas N. The role of nitric oxide in the object recognition memory. Behav Brain Res. 2015 May 15;285:200-7. doi: 10.1016/j.bbr.2014.06.008
396. Small BJ, Mobly JL, Laukka EJ. Cognitive deficits in preclinical Alzheimer's disease. Acta Neurol Scand Suppl. 2003;179:29-33. doi: 10.1034/j.1600-0404.107.s179.6.x
397. Braga RJ, Reynolds GP, Siris SG. Anxiety comorbidity in schizophrenia. Psychiatry Res. 2013 Nov 30;210(1):1-7. doi: 10.1016/j.psychres.2013.07.030

398. Whishaw IQ, Gorny B, Sarna J. Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat: behavioral and anatomical dissociations. Behav Brain Res. 1998 Jun;93(1-2):167-83. doi: 10.1016/s0166-4328(97)00152-6

399. Spiacci A Jr, Kanamaru F, Guimarães FS. Nitric oxide-mediated anxiolytic-like and antidepressant-like effects in animal models of anxiety and depression. Pharmacol Biochem Behav. 2008 Jan;88(3):247-55. doi: 10.1016/j.pbb.2007.08.008

400. Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. Interdiscip Toxicol. 2013 Sep;6(3):126-35. doi: 10.2478/intox-2013-0020

401. Guimarães FS, Beijamini V, Moreira FA. Role of nitric oxide in brain regions related to defensive reactions. Neurosci Biobehav Rev. 2005;29(8):1313-22. doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.026

402. Gower-Winter SD, Levenson CW. Zinc in the central nervous system: From molecules to behavior. Biofactors. 2012 May-Jun;38(3):186-93. doi: 10.1002/biof.1012

403. Del Bel EA, Souza AS, Guimarães FS. Motor effects of acute and chronic inhibition of nitric oxide synthesis in mice. Psychopharmacology (Berl). 2002 Apr;161(1):32-7. doi: 10.1007/s00213-002-1009-2

404. Moretti M, Freitas AE, Budni J. Involvement of nitric oxide-cGMP pathway in the antidepressant-like effect of ascorbic acid in the tail suspension test. Behav Brain Res. 2011 Nov 20;225(1):328-33. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.024

405. Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. Neuroscientist. 2010 Aug;16(4):435-52. doi: 10.1177/1073858410366481

406. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. Prog Neurobiol. 2001 May;64(1):51-68. doi: 10.1016/s0301-0082(00)00044-7

407. Spolidório PC, Echeverry MB, Iyomasa M. Anxiolytic effects induced by inhibition of the nitric oxide-cGMP pathway in the rat dorsal hippocampus. Psychopharmacology (Berl). 2007 Dec;195(2):183-92. doi: 10.1007/s00213-007-0890-0

408. Lazzarini M, Salum C, Del Bel EA. Combined treatment of ascorbic acid or alpha-tocopherol with dopamine receptor antagonist or nitric oxide synthase inhibitor potentiates cataleptic effect in mice. Psychopharmacology (Berl). 2005 Aug;181(1):71-9. doi: 10.1007/s00213-005-2222-6

409. Del Bel EA, da Silva CA, Guimarães FS. Catalepsy induced by intra-striatal administration of nitric oxide synthase inhibitors in rats. Eur J Pharmacol. 2004 Feb 6;485(1-3):175-81. doi: 10.1016/j.ejphar.2003.11.071
410. Monzón ME, Varas MM, De Barioglio SR. Anxiogenesis induced by nitric oxide synthase inhibition and anxiolytic effect of melanin-concentrating hormone (MCH) in rat brain. Peptides. 2001 Jul;22(7):1043-7. doi: 10.1016/s0196-9781(01)00439-9
411. Kirchner L, Weitzdoerfer R, Hoeger H, Url A, Schmidt P, Engelmann M, i sur. Impaired cognitive performance in neuronal nitric oxide synthase knockout mice is associated with hippocampal protein derangements. Nitric Oxide. 2004 Dec;11(4):316-30. doi: 10.1016/j.niox.2004.10.005
412. Masood A, Banerjee B, Vijayan VK. Modulation of stress-induced neurobehavioral changes by nitric oxide in rats. Eur J Pharmacol. 2003 Jan 1;458(1-2):135-9. doi: 10.1016/s0014-2999(02)02688-2
413. Wultsch T, Chourbaji S, Fritzen S, Kittel S, Grünblatt E, Gerlach M, i sur. Behavioural and expressional phenotyping of nitric oxide synthase-I knockdown animals. J Neural Transm Suppl. 2007;(72):69-85. doi: 10.1007/978-3-211-73574-9_10
414. Beninger RJ, Forsyth JK, Van Adel M. Subchronic MK-801 behavioural deficits in rats: partial reversal by the novel nitrate GT 1061. Pharmacol Biochem Behav. 2009 Feb;91(4):495-502. doi: 10.1016/j.pbb.2008.09.003
415. Perićić D, Strac DS, Jembrek MJ. Allosteric uncoupling and up-regulation of benzodiazepine and GABA recognition sites following chronic diazepam treatment of HEK 293 cells stably transfected with alpha1beta2gamma2S subunits of GABA (A) receptors. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2007 May;375(3):177-87. doi: 10.1007/s00210-007-0152-z
416. Li S, Quock RM. Effects of a nitric oxide donor on behavior and interaction with nitrous oxide in the mouse light/dark exploration test. Eur J Pharmacol. 2002 Jun 28;447(1):75-8. doi: 10.1016/s0014-2999(02)01891-5
417. Elfline GS, Branda EM, Babich M. Antagonism by NOS inhibition of the behavioral effects of benzodiazepine and GABAA receptor agonists in the mouse elevated plus-maze. Neuropsychopharmacology. 2004 Aug;29(8):1419-25. doi: 10.1038/sj.npp.1300437
418. Mazarati A, Shin D, Auvin S. Kindling epileptogenesis in immature rats leads to persistent depressive behavior. Epilepsy Behav. 2007 May;10(3):377-83. doi: 10.1016/j.yebeh.2007.02.001

419. Pratt JA, Winchester C, Egerton A. Modelling prefrontal cortex deficits in schizophrenia: implications for treatment. Br J Pharmacol. 2008 Mar;153 Suppl 1(Suppl 1):S465-70. doi: 10.1038/bjp.2008.24
420. Barnes SA, Der-Avakian A, Markou A. Anhedonia, avolition, and anticipatory deficits: assessments in animals with relevance to the negative symptoms of schizophrenia. Eur Neuropsychopharmacol. 2014 May;24(5):744-58. doi: 10.1016/j.euroneuro.2013.10.001
421. Eisenstein SA, Bogdan R, Chen L, Moerlein SM, Black KJ, Perlmutter JS, i sur. Preliminary evidence that negative symptom severity relates to multilocus genetic profile for dopamine signaling capacity and D2 receptor binding in healthy controls and in schizophrenia. J Psychiatr Res. 2017 Mar;86:9-17. doi: 10.1016/j.jpsychires.2016.11.007
422. Yu WZ, Silva RM, Sclafani A. Pharmacology of flavor preference conditioning in sham-feeding rats: effects of dopamine receptor antagonists. Pharmacol Biochem Behav. 2000 Apr;65(4):635-47. doi: 10.1016/s0091-3057(99)00239-7
423. Argyropoulos SV, Nutt DJ. Anhedonia revisited: is there a role for dopamine-targeting drugs for depression? J Psychopharmacol. 2013 Oct;27(10):869-77. doi: 10.1177/0269881113494104
424. Swardfager W, Rosenblat JD, Benlamri M. Mapping inflammation onto mood: Inflammatory mediators of anhedonia. Neurosci Biobehav Rev. 2016 May;64:148-66. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.02.017
425. Treadway MT, Zald DH. Reconsidering anhedonia in depression: lessons from translational neuroscience. Neurosci Biobehav Rev. 2011 Jan;35(3):537-55. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.06.006
426. Wassum KM, Ostlund SB, Maidment NT. Distinct opioid circuits determine the palatability and the desirability of rewarding events. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Jul 28;106(30):12512-7. doi: 10.1073/pnas.0905874106
427. Moghaddam B, Adams B, Verma A. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. J Neurosci. 1997 Apr 15;17(8):2921-7. doi: 10.1523/JNEUROSCI.17-08-02921.1997
428. Razoux F, Garcia R, Léna I. Ketamine, at a dose that disrupts motor behavior and latent inhibition, enhances prefrontal cortex synaptic efficacy and glutamate release in the nucleus accumbens. Neuropsychopharmacology. 2007 Mar;32(3):719-27. doi: 10.1038/sj.npp.1301057

429. Nagata M, Nakajima M, Ishiwata Y, Takahashi Y, Takahashi H, Negishi K, i sur. Mechanism Underlying Induction of Hyperglycemia in Rats by Single Administration of Olanzapine. Biol Pharm Bull. 2016;39(5):754-61. doi: 10.1248/bpb.b15-00842
430. Ueyama T, Yoshida K, Senba E. Stress-induced elevation of the ST segment in the rat electrocardiogram is normalized by an adrenoceptor blocker. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2000 May-Jun;27(5-6):384-6. doi: 10.1046/j.1440-1681.2000.03249.x.
431. Pérez-Tilve D, González-Matías L, Aulinger BA, Alvarez-Crespo M, Gil-Lozano M, Alvarez E, i sur. Exendin-4 increases blood glucose levels acutely in rats by activation of the sympathetic nervous system. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010 May;298(5):E1088-96. doi: 10.1152/ajpendo.00464.2009
432. Straub SG, Sharp GW. Evolving insights regarding mechanisms for the inhibition of insulin release by norepinephrine and heterotrimeric G proteins. Am J Physiol Cell Physiol. 2012 Jun 15;302(12):C1687-98. doi: 10.1152/ajpcell.00282.2011
433. Burke SJ, Karlstad MD, Collier JJ. Pancreatic Islet Responses to Metabolic Trauma. Shock. 2016 Sep;46(3):230-8. doi: 10.1097/SHK.0000000000000607
434. Cefalu WT. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. Exp Biol Med (Maywood). 2001 Jan;226(1):13-26. doi: 10.1177/153537020122600103
435. Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. Cell Metab. 2012 May 2;15(5):635-45. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.001
436. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. Cell. 2012 Mar 2;148(5):852-71. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.017
437. Alonso LC, Yokoe T, Zhang P, Scott DK, Kim SK, O'Donnell CP, i sur. Glucose infusion in mice: a new model to induce beta-cell replication. Diabetes. 2007 Jul;56(7):1792-801. doi: 10.2337/db06-1513
438. Yamashita S, Tobinaga T, Ashizawa K, Nagayama Y, Yokota A, Harakawa S, i sur. Glucose stimulation of protooncogene expression and deoxyribonucleic acid synthesis in rat islet cell line. Endocrinology. 1988 Oct;123(4):1825-9. doi: 10.1210/endo-123-4-1825
439. Dwyer DS, Donohoe D. Induction of hyperglycemia in mice with atypical antipsychotic drugs that inhibit glucose uptake. Pharmacol Biochem Behav. 2003 May;75(2):255-60. doi: 10.1016/s0091-3057(03)00079-0
440. Greenbaum CJ, Havel PJ, Taborsky GJ Jr. Intra-islet insulin permits glucose to directly suppress pancreatic A cell function. J Clin Invest. 1991 Sep;88(3):767-73. doi: 10.1172/JCI115375

441. Sasaki N, Iwase M, Uchizono Y, Nakamura U, Imoto H, Abe S, i sur. The atypical antipsychotic clozapine impairs insulin secretion by inhibiting glucose metabolism and distal steps in rat pancreatic islets. Diabetologia. 2006 Dec;49(12):2930-8. doi: 10.1007/s00125-006-0446-6
442. Vukojević J, Milavić M, Perović D i sur. (2021) Pentadecapeptide BPC 157 and the central nervous system. Neural Regen Res 16(0):000-000.
443. Sikiric P, Drmic D, Sever M, Klicek R, Blagaic AB, Tvrdeic A, i sur. Fistulas Healing. Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157 Therapy. Curr Pharm Des. 2020;26(25):2991-3000. doi: 10.2174/1381612826666200424180139
444. Park JM, Lee HJ, Sikiric P. BPC 157 Rescued NSAID-cytotoxicity Via Stabilizing Intestinal Permeability and Enhancing Cytoprotection. Curr Pharm Des. 2020;26(25):2971-2981. doi: 10.2174/1381612826666200523180301
445. Veljaca M, Chan K, Guglietta A (1995) Digestion of h-EGF, h-TGF α, and BPC-15 in human gastric juice. Gastroenterology 108: 761.
446. Lojo N, Rasic Z, Zenko Sever A, Kolenc D, Vukusic D, Drmic D, i sur. Effects of Diclofenac, L-NAME, L-Arginine, and Pentadecapeptide BPC 157 on Gastrointestinal, Liver, and Brain Lesions, Failed Anastomosis, and Intestinal Adaptation Deterioration in 24 Hour-Short-Bowel Rats. PLoS One. 2016 Sep 14;11(9):e0162590. doi: 10.1371/journal.pone.0162590.
447. Drmic D, Kolenc D, Ilic S, Bauk L, Sever M, Zenko Sever A, i sur. Celecoxib-induced gastrointestinal, liver and brain lesions in rats, counteraction by BPC 157 or L-arginine, aggravation by L-NAME. World J Gastroenterol. 2017 Aug 7;23(29):5304-5312. doi: 10.3748/wjg.v23.i29.5304.
448. Kolovrat M, Gojkovic S, Krezic I, Malekinusic D, Vrdoljak B, Kasnik Kovac K, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 resolves Pringle maneuver in rats, both ischemia and reperfusion. World J Hepatol. 2020 May 27;12(5):184-206. doi: 10.4254/wjh.v12.i5.184.
449. Szabo S, Pihan G, Trier JS. Alterations in blood vessels during gastric injury and protection. Scand J Gastroenterol Suppl. 1986;125:92-6. doi: 10.3109/00365528609093823.
450. Gojkovic S, Krezic I, Vrdoljak B, Malekinusic D, Barisic I, Petrovic A, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 resolves suprahepatic occlusion of the inferior caval vein, Budd-Chiari syndrome model in rats. World J Gastrointest Pathophysiol. 2020 Mar 13;11(1):1-19. doi: 10.4291/wjgp.v11.i1.1

451.Zemba Cilic A, Zemba M, Cilic M, Balenovic I, Strbe S, Ilic S, i sur. Pentadecapeptide BPC 157 counteracts L-NAME-induced catalepsy. BPC 157, L-NAME, L-arginine, NO-relation, in the suited rat acute and chronic models resembling 'positive-like' symptoms of schizophrenia. Behav Brain Res. 2021 Jan 1;396:112919. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112919.

452.Hsieh MJ, Lee CH, Chueh HY, Chang GJ, Huang HY, Lin Y, i sur. Modulatory effects of BPC 157 on vasomotor tone and the activation of Src-Caveolin-1-endothelial nitric oxide synthase pathway. Sci Rep. 2020 Oct 13;10(1):17078. doi: 10.1038/s41598-020-74022-y.

453.Fadda F, Rossetti ZL. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. Prog Neurobiol. 1998;56(4):385-431

454.Perrault G, Morel E, Sanger DJ. Lack of tolerance and physical dependence upon repeated treatment with the novel hypnotic zolpidem. J Pharmacol Exp Ther. 1992;262:298-303.

455.Lozic M, Stambolija V, Krezic I, Dugandzic A, Zivanovic-Posilovic G, Gojkovic S, i sur. In relation to NO-System, Stable Pentadecapeptide BPC 157 Counteracts Lidocaine-Induced Adverse Effects in Rats and Depolarisation In Vitro. Emerg Med Int. 2020 May 27;2020:6805354. doi: 10.1155/2020/6805354

456.Perovic D, Kolenc D, Bilic V, Somun N, Drmic D, Elabjer E, i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 can improve the healing course of spinal cord injury and lead to functional recovery in rats. J Orthop Surg Res. 2019 Jul 2;14(1):199. doi: 10.1186/s13018-019-1242-6.

457.Fan H, Chen K, Duan L, Wang YZ, Ju G. Beneficial effects of early hemostasis on spinal cord injury in the rat. Spinal Cord 2016;54(11):924-932.

458.Konosic S, Petricevic M, Ivancan V, Konosic L, Goluza E, Krtalic B, i sur. Intragastric Application of Aspirin, Clopidogrel, Cilostazol, and BPC 157 in Rats: Platelet Aggregation and Blood Clot. Oxid Med Cell Longev. 2019 Dec 30;2019:9084643. doi: 10.1155/2019/9084643

459.Bakker NA, Veeger NJ, Vergeer RA. Prognosis after spinal cord and cauda compression in spontaneous spinal epidural hematomas. Neurology 2015;84(18):1894-903.

460.Sikirić P, Seiwerth S, Grabarević Z, Rucman R, Petek M, Jagić V, i sur. Beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin, and capsaicin neurotoxicity. Dig Dis Sci. 1996 Aug;41(8):1604-14. doi: 10.1007/BF02087908

461. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L, i sur. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. Regul Pept. 2010 Feb 25;160(1-3):33-41. doi: 10.1016/j.regpep.2009.11.005
462. Wang XY, Qu M, Duan R, Shi D, Jin L, Gao J, i sur. Cytoprotective Mechanism of the Novel Gastric Peptide BPC157 in Gastrointestinal Tract and Cultured Enteric Neurons and Glial Cells. Neurosci Bull. 2019 Feb;35(1):167-170. doi: 10.1007/s12264-018-0269-8
463. Mihovil I, Radic B, Brcic I, i sur. Beneficial effect of pentadecapeptide BPC 157 on denervated muscle in rats. J Physiol Pharmacol. 2009;60:56
464. Stambolija V, Stambolija TP, Holjevac JK, Murselovic T, Radonic J, Duzel V, Duplancic B, i sur. BPC 157: The counteraction of succinylcholine, hyperkalemia, and arrhythmias. Eur J Pharmacol. 2016;781:83-91.
465. Tkalcević VI, Cuzić S, Brajsa K, Mildner B, Bokulić A, Situm K, i sur. Enhancement by PL 14736 of granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression. Eur J Pharmacol. 2007 Sep 10;570(1-3):212-21. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.05.072
466. Chang CH, Tsai WC, Hsu YH, Pang JH. Pentadecapeptide BPC 157 enhances the growth hormone receptor expression in tendon fibroblasts. Molecules. 2014 Nov 19;19(11):19066-77. doi: 10.3390/molecules191119066
467. Hsieh MJ, Liu HT, Wang CN, Huang HY, Lin Y, Ko YS, i sur. Therapeutic potential of pro-angiogenic BPC157 is associated with VEGFR2 activation and up-regulation. J Mol Med (Berl). 2017 Mar;95(3):323-333. doi: 10.1007/s00109-016-1488-y

11. ŽIVOTOPIS

Rođenje: 27.03.1978., Sarajevo, BiH

Radno mjesto: KBC Zagreb, Klinika za Neurologiju

Akademski curriculum:

Od 2015. specijalist neurologije pri Klinici za neurologiju KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Od 2020. uži specijalist iz područja neuromuskularnih bolesti, Klinika za neurologiju, Klinički bolnički centar Zagreb

Obrazovanje:

2013.-2020. Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

1997. – 2004. Medicinski fakultet u Zagrebu, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

1993. – 1997. Opća gimnazija, Slavonski Brod

Publikacije:

Autor i koautor 6 znanstvenih radova od kojih su 4 znanstvena rada indeksirana u Wos Core Collection (SCI-EXP/SSCI) recenziranim časopisima, a 2 u Scopus (Excerpta Medica) recenziranim časopisima.

Članstva:

Hrvatska liječnička komora (HLK), Hrvatski liječnički zbor (HLZ), Hrvatsko neurološko društvo (HND), European Academy of Neurology (EAN), Hrvatsko društvo za neuromuskularne bolesti i kliničku elektromioneurografiju (HDNRMB)